



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
BIOLÓGICAS: FISIOLOGIA



DÉBORA SANTOS ROCHA

**ESTUDO DO METABOLISMO DE RATOS DIABÉTICOS
SUBMETIDOS AO TRATAMENTO COM ERVA-MATE
(*Ilex paraguariensis*)**

Porto Alegre
2016

DÉBORA SANTOS ROCHA

**ESTUDO DO METABOLISMO DE RATOS DIABÉTICOS
SUBMETIDOS AO TRATAMENTO COM ERVA-MATE (*Ilex
paraguariensis*)**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia do Departamento de Fisiologia, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para a obtenção do título de Mestre em Fisiologia.

Orientador: Luiz Carlos Rios Kucharski

Porto Alegre
2016

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus colegas do Laboratório de Metabolismo e Endocrinologia Comparada (LaMEC), tanto alunos como professores, por me acolherem, ensinarem seus conhecimentos e auxiliarem nos experimentos, ações estas que possibilitaram a realização dos resultados obtidos neste trabalho. Também agradeço pela ótima companhia, apoio e amizade, que ajudaram a tornar a rotina de laboratório muito agradável e divertida.

Ao meu orientador Luiz Carlos Kucharski, pelos vastos ensinamentos, acolhimento em seu grupo de pesquisa, auxílio nos experimentos, além da constante motivação e tranquilidade, traços marcantes para a excelência na atividade de orientação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia, pelo apoio, orientação e disponibilidade que apresenta aos seus alunos de pós-graduação.

Ao meu namorado pelo auxílio nos experimentos e apoio pessoal, que auxiliaram na dedicação às atividades deste trabalho e motivação pessoal para atingir minhas metas, tanto de fins pessoais quanto profissionais.

Aos meus pais pela educação, apoio às escolhas profissionais, suporte afetivo fundamentais para a minha trajetória profissional. Aos meus irmãos pela amizade, companheirismo e inspiração, que me motivam diariamente a buscar sempre dignidade e honradez em minhas escolhas.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio Grande do Sul FAPERGS e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pelo suporte financeiro.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1. Importância da regulação hormonal do metabolismo energético	13
1.2. Diabetes	15
1.2.1. Fisiopatologia geral do diabetes melito	15
1.2.2. Diabetes melito tipo 1	17
1.2.3. Diabetes Melito tipo 2.....	18
1.2.3.1. Desenvolvimento da resistência à insulina e a síndrome metabólica	20
1.2.3.2. Metabolismo muscular no diabetes	23
1.2.3.3. Metabolismo hepático no diabetes.....	25
1.2.4. Tratamento do diabetes melito e aspectos preventivos.....	26
1.2.5. Comorbidades associadas ao diabetes melito.....	27
1.2.6. Epidemiologia.....	30
1.2.7. Modelos animais de diabetes.....	34
1.3. Erva-Mate.....	36
1.3.3. Aspectos Botânicos e distribuição geográfica.....	36
1.3.4. Importância socioeconômica, consumo e processamento.....	38
1.3.5. Aspectos nutricionais	39
1.3.6. Aspectos químicos e propriedades biológicas.....	41
1.3.6.1. Os polifenóis e sua ação biológica.....	43
1.3.6.2. As xantinas e sua ação biológica	46
1.3.6.3. As saponinas e sua ação biológica.....	48
1.3.6.4. Efeito da erva-mate sobre o metabolismo de carboidratos	49
1.3.6.5. Toxicidade.....	50
2. OBJETIVO E HIPÓTESE	52
2.1. Objetivos específicos	52
3. MATERIAL E MÉTODOS	54
3.1. Animais	54
3.2. Indução do diabetes e acompanhamento.....	54
3.3. Preparo do extrato aquoso de erva-mate e tratamento	55
3.4. Aspectos éticos, eutanásia e processamento dos tecidos	56
3.5. Morfometria e relação tecido/peso corporal total.....	56
3.6. Avaliação de parâmetros no soro.....	56
3.7. Captação de Glicose.....	57
3.8. Oxidação de glicose	57
3.9. Conversão tecidual de glicose em glicogênio	58
3.10. Conversão tecidual de glicose em lipídios.....	58

3.11.	Avaliação do conteúdo de glicogênio tecidual	58
3.12.	Avaliação do colesterol tecidual	59
3.13.	Avaliação de triglicerídeos teciduais	59
3.14.	Biossegurança	59
3.15.	Análise Estatística	60
3.16.	Desenho experimental	61
4.	RESULTADOS	62
4.1.	Acompanhamento do peso corporal	62
4.2.	Parâmetros Morfométricos	64
4.3.	Parâmetros Soro.....	66
4.4.	Metabolismo Hepático	68
4.5.	Metabolismo Muscular	74
5.	DISCUSSÃO	77
5.1.	Peso corporal	77
5.2.	Morfometria.....	79
5.2.1.	Tecido adiposo.....	79
5.2.2.	Fígado	81
5.2.3.	Músculo.....	82
5.3.	Parâmetros Soro.....	83
5.3.1.	Níveis de glicose e insulina	84
5.3.2.	Perfil Lipídico.....	86
5.3.3.	Ureia e Creatinina	88
5.3.4.	Transaminases hepáticas	89
5.3.5.	Proteínas Totais	90
5.4.	Metabolismo Hepático	91
5.5.	Metabolismo Muscular	93
6.	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	96

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

TABELAS

Tabela 1. Alteração da composição nutricional em diferentes formas de processamento da erva-mate (pág. 41)

Tabela 2. Aplicações da erva-mate na indústria (pág. 43)

Tabela 3: Análise da composição química do extrato comercial (ervateira Barão de Cotegipe) de erva-mate (pág. 55)

Tabela 4. Efeito do tratamento com chá de Erva-Mate em parâmetros morfométricos de ratos submetidos ao modelo de diabetes (pág. 65)

Tabela 5. Efeito do tratamento com chá de Erva-Mate sob Parâmetros Sorológicos em ratos submetidos ao modelo de diabetes (pág 67)

FIGURAS

Figura 1. Estágios hipotéticos do desenvolvimento do diabetes tipo 1 (pág. 18)

Figura 2. Principais fatores de risco para o diabetes tipo 2 (pág. 19)

Figura 3. Acompanhamento epidemiológico entre 1980-2008 de casos de diabetes padronizados por região e sexo (pág. 31)

Figura 4. Prevalência e tendência do diabetes em indivíduos entre 30-69 anos de idade no Brasil dividida por regiões (pág. 33)

Figura 5. Similaridade das estruturas das moléculas de glicose e estreptozotocina (pág. 35)

Figura 6. Processamento da erva-mate da colheita à comercialização nas formas de erva para chimarrão e chá mate (pág. 37)

Figura 7. Benefícios potenciais dos polifenóis com interesse terapêutico (pág. 44)

Figura 8. Desenho experimental ao longo do tempo (A) e quanto à distribuição nos grupos experimentais (B) (pág. 61)

Figura 9. Efeito do tratamento com chá de Erva-Mate sob o ganho de peso em ratos submetidos ao modelo de diabetes (pág. 63)

Figura 10. Efeito do tratamento com chá de Erva-Mate sob a concentração de triglicerídeos hepática em ratos submetidos ao modelo de diabetes. (pág. 68)

Figura 11. Efeito do tratamento com chá de Erva-Mate sob a concentração de colesterol hepática em ratos submetidos ao modelo de diabetes (pág. 69)

Figura 12. Efeito do tratamento com chá de Erva-Mate sob a oxidação hepática de glicose em ratos submetidos ao modelo de diabetes (pág. 70)

Figura 13. Efeito do tratamento com chá de Erva-Mate sob a conversão hepática de glicose em glicogênio em ratos submetidos ao modelo de diabetes (pág. 71)

Figura 14. Efeito do tratamento com extrato aquoso de erva-mate sob conversão hepática de glicose em lipídios em ratos submetidos ao modelo de diabetes (pág. 72)

Figura 15. Efeito do tratamento com chá de Erva-Mate sob a concentração hepática de glicogênio em ratos submetidos ao modelo de diabetes (pág. 73)

Figura 16. Efeito do tratamento com chá de Erva-Mate sob a oxidação muscular de glicose em ratos submetidos ao modelo de diabetes (pág. 74)

Figura 17. Efeito do tratamento com chá de Erva-Mate sob a captação muscular de glicose em ratos submetidos ao modelo de diabetes (pág. 75)

Figura 18. Efeito do tratamento com chá de Erva-Mate sob a conversão muscular de glicose em glicogênio muscular em ratos submetidos ao modelo de diabetes (pág. 76)

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- [U¹⁴C]- glicose: glicose uniformemente marcada com carbono 14 (metabolizável)
- ¹⁴C-Lipídios: lipídios marcados com carbono 14
- 2-deoxi-D-[¹⁻¹⁴C]- glicose: glicose marcada no carbono 14 marcado não metabolizável
- ACC: acetil coenzima A carboxicinase
- Acetil-CoA: acetil coenzima A
- Acil-CoA: acil coenzima A
- ADA: American Diabetes Association/ Associação Americana de Diabetes
- AGE: produto final de glicação avançada
- ALT/TGP: alanina amino transferase/ transaminase glutâmica pirúvica
- AMP: adenosina monofosfato
- AMPc: adenosina monofosfato cíclica
- AMPK: proteína cinsase dependente de AMP cíclico
- ANOVA: análise de variância
- ApoA-I: apolipoproteínaA-1
- AST/TGO: aspartato amino transferase/ transaminase glutâmica oxalacética
- ATP: trifosfato de adenosina
- ATPase: adenosinatrifosfatase
- AVMA: Associação Americana de Medicina Veterinária
- CNEN: Comissão Nacional de Energia Nuclear
- CO₂: gás carbônico
- HDL-colesterol: colesterol ligado à lipoproteína de alta densidade
- CPT-1: carnitina-pamitil-transferase-1
- CREAL: Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório
- CREB: proteína de ligação ao elemento de resposta ao AMP cíclico
- CTR: controle
- CTR-Mate: controle tratado com extrato aquoso de erva-mate
- DAG: diacilglicerol
- DBT: diabético
- DBT: diabético tratado com extrato aquoso de erva-mate
- DNA: ácido desoxirribonucleico
- Foxo: fator de transcrição da família *forkhead Box*

GLP: peptídeo semelhante ao glucagon

GLUT: transportador de glicose

HCPA: Hospital de Clínicas de Porto Alegre

HDL: lipoproteína de alta densidade

HGM-CoA redutase: 3-hidroxi-3-metil-glutaril-coenzima A redutase

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IL-8: interleucina-8

LDL: lipoproteína de baixa densidade

Malonil-CoA: malonil coenzima A

MDA: malondialdeído

mRNA: ácido ribonucléico mensageiro

MS: músculo Sóleo

NAD⁺: dinucleotídeo nicotinamina e adenina forma oxidada

NADH: dinucleotídeo nicotinamina e adenina forma reduzida

NO: óxido nítrico

NRF: fator nuclear respiratório

O₂: gás oxigênio

PAI-1: inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1

PCT: peso corporal total

PDE: fosfodiesterase

PEPCK: fosfoenolpiruvato carboxicinase

PGC1- α : coativador do receptor- γ ativado por proliferador de peroxissomo 1- α

PGC1- β : coativador do receptor- γ ativado por proliferador de peroxissomo 1- β

PHOS: enzimas semelhantes às fosforilases

PKC: proteína cinase C

PPAR- γ : receptor- γ ativado por proliferador de peroxissomo

Razão F: fígado em relação ao peso corporal

Razão MS: músculo Sóleo em relação ao peso corporal

Razão TAE: tecido adiposo epididimal em relação ao peso corporal

Razão TAR: tecido adiposo retroperitoneal em relação ao peso corporal

SGLT-1: proteína de transporte sódio-glicose- 1

SNC: sistema nervoso central

STZ: estreptozotocina

TAE: tecido adiposo epididimal

TAR: tecido adiposo retroperitoneal

TBARS: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

TCA: ciclo do ácido tricarboxílico

TNF- α : fator de necrose tumoral- α

UCP: proteína de desacoplamento

VLDL: lipoproteína de densidade muito baixa

WHO/OMS: World and Health Organization/ Organização Mundial da Saúde

RESUMO

Está bem estabelecido que o diabetes melito está associado a uma série de distúrbios clínicos que envolvem a alteração no metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídios. Tem-se observado aumento importante da morbidade e mortalidade associadas a esta doença, sendo que dentre as causas, em ambos os tipos de diabetes (1 e 2), têm-se o aumento de fatores de risco, como o sobrepeso ou obesidade e o estilo de vida sedentário. A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) tem apresentado grande potencialidade para utilização preventiva e terapêutica no diabetes graças à atividade biotiva dos seus compostos (metilxantinas, polifenóis e saponinas), capazes de alterar o metabolismo tecidual energético tanto em protocolos experimentais com animais de laboratório quanto humanos. Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi elucidar o efeito da administração do chá de mate em ratos Wistar diabéticos, tendo como foco o metabolismo tecidual muscular e hepático. Para tanto, ratos Wistar machos foram submetidos a indução do diabetes experimental com injeção de estreptozotocina (65 mg/kg, i.p.) e posteriormente tratados com o extrato aquoso de erva-mate através da água de beber por 30 dias. Ao final do tratamento, os animais foram eutanasiados e os tecidos (soro, músculo, fígado e tecido adiposo retroperitoneal e epididimal) foram coletados para análise. Analisando a morfometria tecidual, o tratamento com mate promoveu a diminuição do peso do tecido adiposo retroperitoneal em controles tratados com mate, o que sugere ação lipolítica; também houve reversão da perda de peso muscular em ratos diabéticos tratados com mate, sugerindo ação protetora do mate diante da perda muscular intensa no diabetes não tratado. Após o tratamento, houve melhoramento nos níveis de glicose, creatinina, uréia e proteínas totais no soro, o que sugere ação benéfica através da capacidade de diminuição da glicemia e proteção, especialmente do tecido muscular, contra o quadro de desnutrição. Contudo, foram agravados os níveis de HDL-colesterol e ALT/TGP, indicando a necessidade de mais estudos para confirmar o efeito benéfico e a ausência de toxicidade hepática no consumo da erva-mate desta doença. Foi possível observar mudanças expressivas no metabolismo do músculo esquelético através dos ensaios de captação e oxidação de glicose em animais diabéticos. Parâmetros estes revertidos aos níveis encontrados nos controles após o tratamento com mate. Isso sugere ação efetiva dos compostos do mate em parâmetros metabólicos alterados no diabetes e ainda um mecanismo protetor no tecido muscular. No fígado, inúmeras variáveis apresentaram a expressiva alteração do metabolismo energético no diabetes: oxidação de glicose, bem como a sua conversão em lipídios e glicogênio; e os valores colesterol e triglicérides teciduais. Contudo apenas o colesterol tecidual foi afetado pelo tratamento com mate. Ainda se faz necessário aumentar o número de trabalhos que avaliam como a erva-mate pode atuar na fisiopatologia do diabetes tendo como foco o metabolismo energético. Em conjunto com os dados da literatura científica, estes resultados aqui apresentados contribuem, sob ponto de vista metabólico, para a elucidação da potencialidade do uso terapêutico e preventivo da erva-mate, o qual se apresenta cada vez mais com potencial benéfico. Contudo, são necessários mais estudos para apontar a segurança da ingestão de erva-mate não necessariamente como fator preventivo em indivíduos saudáveis, mas sim especialmente pelos indivíduos acometidos pelo diabetes para enfim sugerir seu uso como adjuvante terapêutico. Ainda verificar a ação específica dos compostos (polifenóis, metilxantinas e saponinas) com a finalidade de apontar quais frações levariam aos mesmos desfechos aqui observados.

Palavras-chave: Diabetes. *Ilex paraguariensis*. Metabolismo muscular. Metabolismo hepático.

ABSTRACT

There is a well known relationship between metabolic disturbances and clinical events related to diabetes and a dangerous prevalence increase worldwide for both types of this disease (diabetes type 1 and 2). This enhancement is caused by overweight, sedentary lifestyle and other risk factors associated to occidental habits. Yerba-mate (*Ilex paraguariensis*) has been presented a potential use to preventive and therapeutical aspects of diabetes due to its bioactive fractions (methylxanthines, saponins and polyphenols), which have a capability to improve energetic metabolism in murine models and human. The aim of this study was to elucidate the effect of yerba-mate on hepatic and muscle energetic metabolism of diabetic rats. To perform the diabetes inducing protocol Wistar rats received streptozotocin (65mg/kg i.p.), then the mate treatment protocol was performed daily and offered as a drink tea. After a 30-day treatment, the animals were weighed and euthanized to evaluate metabolic parameters on liver, adipose tissue, muscle and serum. The results of morphometric evaluation showed mate treatment promoted a decrease on retroperitoneal adipose tissue compared to control group, which appear to be related to lipolitic action of xanthines. Also, the muscle weight returns to basal levels (control) on diabetic rats treated with mate, which suggests a protective property against expressive proteolysis due to diabetic metabolic state. There was observed an improvement on glucose, creatinin, urea, total protein levels on serum related to mate treatment and its beneficial property against intense catabolic pathways of diabetic rats. However, HDL-cholesterol and ALT/TGO levels were affected, which suggests more studies are necessary. Expressive changes on metabolic parameters on liver and muscle were observed, although only muscle parameters, such as glucose uptake, CO₂ production, were improved by mate treatment, suggesting a protective action of mate's methylxanthines on muscle. It's clear the benefic actions mate could have on metabolic diseases due to its properties, although more studies are necessary to elucidate the physiological properties of mate on diabetes state, and our experiments could contribute with original results about this topic.

Keywords: Diabetes. Yerba-mate. *Ilex paraguariensis*. Muscle Metabolism. Hepatic Metabolism

1. INTRODUÇÃO

Com o propósito de descrever aspectos relevantes para o estudo da fisiopatologia do diabetes melito, faz-se necessário a retomada de conceitos básicos e de estudos recentes, de destaque, neste domínio. Assim, nesta introdução serão apresentados temas básicos e pesquisas atuais no estudo do diabetes, além de conteúdos que abordam as características da erva-mate e trabalhos que descrevem sua ação biológica tendo como foco o potencial uso terapêutico desta planta.

1.1. Importância da regulação hormonal do metabolismo energético

O estudo do metabolismo energético é de suma importância para o entendimento da patogênese do diabetes. Assim, é indispensável a retomada de conhecimentos sobre a ação dos hormônios insulina e glucagon, bem como o desfecho observado na fisiologia dos tecidos nos diferentes estados metabólicos.

A glicose é obtida pela digestão dos carboidratos, absorvida pela borda em escova intestinal e chega ao pâncreas através da circulação sanguínea. Neste sítio, ela estimula a liberação de insulina pelas células β -pancreáticas pelo seguinte mecanismo: as células β transportam glicose para o seu citoplasma por difusão facilitada via GLUT-2 e, após esse evento, o catabolismo da glicose gera aumento da concentração intracelular de ATP, o qual estimula o fechamento de canais de potássio dependentes de ATP. O fechamento destes canais gera uma despolarização da membrana da célula, o que leva à abertura de canais de cálcio dependentes de voltagem. Ao abrirem, estes canais permitem a entrada do íon cálcio na célula, o que por sua vez, desencadeia a exocitose de vesículas intracelulares que contêm insulina.

Chegando através da corrente sanguínea, a insulina age por meio de receptor de membrana em tecidos específicos, levando ao incremento da captação de glicose pelo músculo esquelético e tecido adiposo. Ao entrar na célula, a glicose é convertida em glicose-6-fosfato e intensifica o estoque energético nas formas de glicogênio e lipídios, respectivamente. No fígado, a captação é independente da sinalização do receptor de membrana, que desencadeia a ativação a glicogênio sintase e inativação da glicogênio fosforilase, promovendo também o incremento do estoque energético na forma de glicogênio.

Além do aumento da via glicogênica, no tecido hepático, a insulina ativa a oxidação de glicose-6-fosfato em piruvato, pela via glicolítica, e a oxidação de piruvato a acetil CoA. O aumento de acetil CoA, no estado alimentado, leva à produção de ácidos graxos, que são posteriormente exportados do fígado para o tecido adiposo através de lipoproteínas plasmáticas de densidade muito baixa (VLDL). Nos adipócitos, a insulina estimula a síntese de triacilglicerol a partir dos ácidos graxos advindos da corrente sanguínea via VLDL. Assim, esses ácidos graxos utilizados para depósito energético nos adipócitos são derivados do excesso de glicose metabolizado pelo fígado. Em suma, a insulina tem importância na conversão do excesso de substratos em depósitos energéticos (glicogênio e triacilglicerol), o que a confere a característica de hormônio de ação predominantemente anabólica no estado pós-prandial (alimentado).

O glucagon é um hormônio contrarregulador da insulina. Durante período de jejum, onde a glicose sanguínea tende a diminuir através do consumo basal dos tecidos, o glucagon é secretado. A sua ação se dá em prol do aumento dos níveis de glicose sanguíneos para manutenção da glicemia. Para tanto, ele estimula a degradação do estoque de glicogênio hepático, ativando a glicogênio fosforilase, e também estimula a gliconeogênese hepática, reduzindo a concentração de frutose-2,6-bisfosfato, inibidor alostérico da enzima gliconeogênica frutose-1,6-bisfosfatase e ativador da enzima glicolítica fosfofrutoquinase-1. Este hormônio também inibe a enzima glicolítica piruvato-quinase, bloqueando a conversão de fosfoenolpiruvato em piruvato, e impedindo a oxidação do piruvato no ciclo do ácido cítrico. O acúmulo de fosfoenolpiruvato também favorece a gliconeogênese e esse efeito é aumentado pela estimulação concomitante da síntese da enzima gliconeogênica PEP-carboxicinase (PEPCK). Assim, pelo incremento da degradação de glicogênio, diminuição da glicólise e produção de glicose através da gliconeogênese nos hepatócitos, o glucagon, aumenta a produção e exportação de glicose do fígado para a corrente sanguínea, elevando os níveis de glicose plasmáticos.

O glucagon também age no tecido adiposo, estimulando a lipólise, através a ativação da perilipina e lipase sensível a hormônio. As lipases ativadas promovem a liberação de ácidos graxos livres na circulação, exportando-os para o fígado e outros tecidos. Resumindo, o efeito do glucagon é estimular a produção (via gliconeogênese) e liberação de glicose para a corrente sanguínea pelo fígado e aumentar a mobilização de glicogênio (do fígado principalmente) e ácidos graxos (dos adipócitos) dos tecidos para corrente sanguínea, caracterizando sua ação predominantemente catabólica. (NELSON; COX, 2014)

O controle hormonal do metabolismo energético necessita das ações de níveis ajustados de insulina e glucagon, além da regulação adicional feita pelas catecolaminas e cortisol. As vias de sinalização do metabolismo de glicose são de suma importância para a manutenção da homeostase energética dos tecidos, e a sua desregulação tem consequências importantes nas funções fisiológicas, e, conseqüentemente, no desenvolvimento de doenças com alta taxa de mortalidade e morbidade, como o diabetes melito.

1.2. Diabetes

O termo diabetes melito descreve uma desordem metabólica de múltiplas etiologias, mas apresenta, como desfecho comum, a hiperglicemia. Este distúrbio decorre de defeitos na secreção do hormônio Insulina, na sua ação tecidual ou em ambos. A ausência ou ineficiência deste hormônio leva inicialmente a alterações no balanço adequado dos níveis energéticos através do descontrole do metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas. Posteriormente ocorrem disfunções celulares e teciduais, que culminam, por fim, em comprometimento das funções fisiológicas em todo o organismo.

Os sintomas típicos desta doença incluem poliúria, polidipsia, polifagia, fadiga constante, alterações de humor; e o diagnóstico decorre da observação da hiperglicemia em jejum (acima de 100mg/dL) e, em casos mais avançados, cetoacidose. Frequentemente, os sintomas são pouco severos ou inclusive ausentes. Isso leva à demora na detecção da hiperglicemia, o que pode acarretar em distúrbios secundários silenciosos. Dentre os danos gerados pela hiperglicemia crônica estão a retinopatia, neuropatia periférica, falência renal, acidente vascular encefálico, infarto do miocárdio, complicações vasculares e outros inúmeros eventos que podem, na ausência do tratamento, culminar em prejuízo permanente das funções teciduais e inclusive em morte.

1.2.1. Fisiopatologia geral do diabetes melito

Inúmeros processos patogênicos podem estar envolvidos no desenvolvimento do diabetes, desde a destruição das células β -pancreáticas, produtoras de insulina, até o desenvolvimento da resistência tecidual à ação deste hormônio. Em ambos os casos, as consequências são anormalidades no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas, uma

vez que este hormônio tem papel crucial no metabolismo energético de todo organismo. (ALBERTI; ZIMMET, 1998)

Diante da variedade de causas que podem estar envolvidas, a classificação desta doença se fez necessária. Kuzuya e Matsuda (1997) sugeriram a classificação através da observação do estágio clínico e etiologia. A doença, independentemente da sua etiologia, progride de maneira semelhante nos indivíduos de maneira geral, o que é importante no tratamento das doenças associadas. Mas a classificação etiológica se faz necessária para esclarecer a causa inicial e conseqüentemente delinear uma estratégia de tratamento para o fator etiológico, auxiliando também no impedimento da progressão da doença.

A presença de reatividade imunológica (anticorpos) contra células das ilhotas pancreáticas é o marcador padrão-ouro do diabetes melito tipo 1 autoimune uma vez que alguns podem não ter como origem a destruição por reação imunológica contra as células pancreáticas, sendo classificados como idiopáticos. Em relação ao diabetes melito tipo 2, ainda há necessidade de definir claramente o fator causal mesmo que já seja relatada, na maioria dos casos, o desenvolvimento da resistência à insulina e/ou defeitos na sua secreção. Além destes, existem outros tipos de diabetes mais específicos, como o diabetes gestacional, gerado por endocrinopatia associada, ou, com menor frequência, diabetes desencadeado por substâncias químicas nocivas às células β . Mesmo diante de inúmeros estudos, a etiologia desta enfermidade demonstra-se bastante ampla, o que gera a necessidade de trabalhos científicos neste âmbito.

Ambos os tipos de diabetes levam à desregulação da glicemia de jejum e/ou comprometimento da tolerância tecidual à insulina. A prática de exercícios e o controle da ingesta alimentar, juntos ao tratamento com medicação oral (insulina e/ou medicamentos antidiabéticos), levam ao controle da concentração de glicose sanguínea. Ainda, o tratamento com insulina, depende da funcionalidade residual das células β -pancreáticas e deve ser utilizado de acordo com o diagnóstico específico de cada paciente. Todas essas medidas habituais e medicamentosas têm como objetivo reverter ou estabilizar o progresso da doença levando a melhora da qualidade de vida, controle e/ou prevenção das doenças associadas.

De maneira geral o termo diabetes tipo 1 será utilizado nesta dissertação para referir-se ao diabetes melito de causa autoimune e o termo diabetes melito tipo 2 referir-se-á ao desequilíbrio na ação ou secreção de insulina com maior contribuição do quadro de resistência à insulina. Ou seja, não serão abordados casos mais específicos, como toxicidade química ou diabetes gestacional.

1.2.2. Diabetes melito tipo 1

Quanto à etiologia, o desenvolvimento do diabetes pode se relacionar a diferentes processos. O diabetes melito tipo 1 é conhecido como a forma juvenil de diabetes, isso porque frequentemente se apresenta em crianças e adolescentes. A evolução desta doença pode ser dividida em uma série de estágios. Inicialmente tem-se a susceptibilidade genética e a destruição das células β -pancreáticas por ação autoimune, como pode ser visto na **Figura 1**. É provável, contudo, que tanto a característica genética quando a exposição a fatores ambientais influencie na evolução e desenvolvimento desse quadro patológico. Assim, observando-se fatores genéticos, como histórico familiar; imunológicos, como a presença de anticorpos contra ilhotas pancreáticas; e metabólicos, como a presença de hiperglicemia ou cetonúria, o diabetes tipo 1 torna-se previsível em comparação com os demais tipos, o que possibilita o diagnóstico em estágios iniciais da doença e conseqüentemente a manutenção da qualidade de vida do paciente. (KRONENBERG *et al.*, 2008)

O histórico familiar auxilia no acompanhamento de pacientes pertencentes ao grupo de risco para desenvolvimento da doença, mas o diagnóstico padrão-ouro é baseado na presença da hiperglicemia em jejum (acima de 100mg/dl). Entretanto, tem-se observado a importância da presença da hiperglicemia transitória como fator falso positivo, geralmente associado ao histórico de estresse emocional intenso. Assim sendo, a confirmação do diagnóstico ocorre através da avaliação da reatividade imunológica juntamente à hiperglicemia e ao quadro clínico.

O tratamento, diante do diagnóstico, efetiva-se através da administração de insulina exógena juntamente ao controle glicêmico, o que é em geral eficaz e capaz de controlar quaisquer desregulações que possam ser iniciadas pela hiperglicemia crônica, uma vez que reestabelece a normoglicemia.

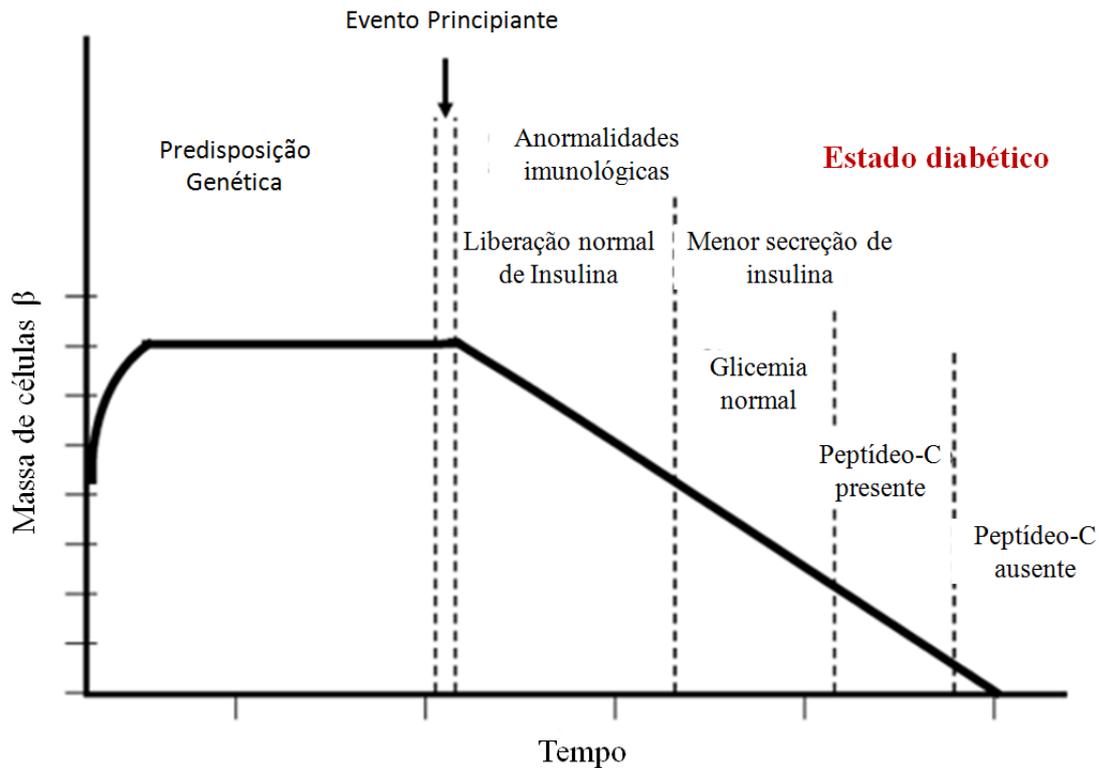


Figura 1. Estágios hipotéticos do desenvolvimento do diabetes tipo 1. (Adaptado de EISENBARTH, 1986)

1.2.3. Diabetes Mellito tipo 2

A patogênese do diabetes melito tipo 2 é bastante complexa. Os fatores ambientais e habituais desempenham papel importante, isto porque esta doença está notadamente associada à ingesta calórica excessiva, que leva à obesidade, e ao estilo de vida sedentário. Por ser associada a fatores habituais, a apresentação dos sintomas, a manifestação da hiperglicemia e a idade de diagnóstico são bastante heterogêneos neste tipo de diabetes. (KRONENBERG *et al.*, 2008)

Entretanto, o quadro fisiopatológico envolve três anomalias fundamentais: resistência à insulina em tecidos periféricos, problemas na secreção de insulina em resposta ao aumento da glicemia e aumento da produção hepática de glicose, sendo a dificuldade de secreção adequada de insulina um dos primeiros mecanismos de desenvolvimento desta disfunção endócrina.

Existem fatores conhecidos que exigem alta demanda sobre a células β-pancreáticas, são eles: puberdade, gravidez, estilo de vida sedentário e ingesta calórica excessiva. Em geral, os pacientes apresentam histórico de ganho de peso devido ao estilo de vida sedentário e alta

ingesta calórica. Ainda, a predisposição genética pode ser um fator importante no risco de desenvolvimento da doença; entretanto, têm-se cada vez mais direcionado atenção aos fatores relacionados aos hábitos de vida, os quais se apresentam determinantes no insulto às células β -pancreáticas e conseqüentemente à sua função secretória.

Assim como no diabetes melito tipo 1, o diagnóstico e o tratamento precoce são de suma importância para o controle da doença e da manutenção da qualidade de vida do paciente. Entretanto, indivíduos com diabetes melito tipo 2 podem apresentar-se assintomáticos, o que dificulta a identificação precoce da desordem. A American Diabetes Association (ADA) sugere que seja feito o acompanhamento periódico da resposta a ingesta de glicose a cada 3 anos, a partir dos 45 anos de idade, sendo que os exames devem ser feitos com maior frequência em indivíduos com idades mais jovens na presença dos fatores de risco (Figura 2)



Figura 2. Principais fatores de risco para o diabetes tipo 2. (Adaptado de NORAITATULAKMA *et al.*, 2014)

A medida da glicemia em jejum, da proteinúria e da hemoglobina glicada são amplamente utilizadas para investigação desta doença. Entretanto, o teste de tolerância oral à glicose é substancialmente mais sensível visto que é capaz de demonstrar a característica inicial da patogênese: disfunção na resposta (secreção de insulina) das células β -pancreáticas frente à ingestão de glicose. Neste teste o paciente ingere uma quantidade conhecida de glicose, e, após 120 minutos, é coletada uma amostra de sangue, da qual é dosada a glicemia. Em um indivíduo normal, a glicose será absorvida no intestino, aumentará a glicemia e, após 120 minutos, deverá retornar ao nível basal. Em um indivíduo nos estágios iniciais da doença, a glicemia aumentará e o retorno aos níveis basais será mais demorado. Este teste acusa um dos primeiros mecanismos fisiopatológicos da doença. Se acompanhado de outros fatores, como dislipidemia e alteração da pressão arterial, por exemplo, leva ao início da intervenção terapêutica. Assim, o tratamento pode se dar tanto através da mudança de hábitos de vida (estágio pré-diabético) quanto pelo tratamento medicamentoso com sulfonilureia, metformina, inibidores da α -glicosidase (sensibilizadores da ação da insulina) e/ou pela administração de insulina exógena (diabetes já desenvolvido).

1.2.3.1. Desenvolvimento da resistência à insulina e a síndrome metabólica

A síndrome metabólica é composta por uma variedade de desordens: a hipertensão arterial, resistência à insulina, dislipidemia, obesidade abdominal, diminuição dos níveis de HDL-c e hiperglicemia são importantes indicadores de risco para o desenvolvimento de diabetes tipo 2 (ALBERTI *et al.*, 2008)

O acúmulo de tecido adiposo visceral é mostrado em inúmeros estudos como a base do desenvolvimento da síndrome metabólica (MATSUZAWA, 2000). Isso porque este tecido, mais do que representar uma reserva energética, tem a capacidade de secretar substâncias bioativas denominadas adipocinas. De maneira geral, já se têm descrito que níveis de adiponectina são baixos em indivíduos com diabetes melito tipo 2 (HOTTA *et al.*, 2000) e têm relação inversa com o acúmulo de adiposidade visceral. Enquanto isso, os níveis de inibidor do ativador de plasminogênio tipo 1 (PAI-1) aumentam junto com o acúmulo de gordura visceral (MATSUZAWA, 2005). Também, o fator de necrose tumoral- α (TNF- α) é reportado como potente inibidor da atividade do promotor de adiponectina e possível indicador da atividade secretória dos adipócitos (MAEDA *et al.*, 2001). Diante disso, o nível

de adipocinas secretado pelo tecido adiposo visceral, como PAI-1, adiponectina, TNF- α e IL-8 tem-se demonstrado cada vez mais importante no estudo do desenvolvimento da síndrome metabólica. (SAMARAS *et al.*, 2015; MATSUZAWA, 2010)

A resistência insulínica tem relação importante na fisiopatologia do diabetes melito tipo 2, sendo que está presente ainda antes do aparecimento da doença. Dentre as consequências da resistência à insulina está a redução da captação e metabolismo da glicose que normalmente encontram-se estimulados pela insulina no tecido adiposo e músculo esquelético, além de aumento do débito hepático de glicose. Dentre os fatores que influenciam a resistência à insulina estão a idade (KRENTZ *et al.*, 2013), peso, etnia, adiposidade abdominal, atividade física e exposição a agentes químicos (STUART, 1998). Assim, a resistência à insulina é protagonista na progressão do diabetes melito tipo 2, embora em pacientes com a doença sempre haja algum grau de disfunção da célula β -pancreática (KJOS *et al.*, 1990).

Um fator importante associado à resistência à insulina é a percentagem de gordura corporal, em especial adiposidade central (intra-abdominal), que está associada a uma série de alterações metabólicas importantes: concentração plasmática de glicose, insulina, colesterol, triglicerídeos e lipoproteína HDL (RACETTE *et al.*, 2006). Cabe salientar que o acúmulo de gordura abdominal tem maior efeito sobre a resistência à insulina do que a gordura corporal total. Para explicar este fato, existem algumas hipóteses como a característica da gordura abdominal ser mais lipoliticamente ativa do que a subcutânea por exemplo. Conseqüentemente, a característica deste depósito de gordura de ser mais resistente à ação da insulina prejudica a regulação da liberação de ácidos graxos na circulação porta (DE KOSTER *et al.*, 2015). Ainda, observa-se a presença de níveis mais altos de 11β -hidroxiesteroide desidrogenase tipo 1, o que incrementa a conversão de cortisona inativa em cortisol, tornando a produção de cortisol elevada. Este hormônio, por sua vez, induz a lipólise nos adipócitos, o que leva a alteração na secreção de adipocinas, já descritas como importantes na regulação do metabolismo da glicose.

A hiperinsulinemia, característica também observada no diabetes melito tipo 2, foi proposta como causa da resistência a insulina. Isso porque concentrações elevadas deste hormônio podem provocar a *downregulation* de receptores insulínicos e desensibilização das vias pós-receptoras (SOMAN; DEFRONZO, 1980). Estudos demonstraram que a hiperinsulinemia em pessoas saudáveis pode prejudicar a capacidade da insulina de estimular a glicogênese pelo comprometimento da sua capacidade de estimular a glicogênio sintase. (WINNICK *et al.* 2013). Também, em indivíduos obesos insulinoresistentes, há aumento nos

níveis basais de insulina em comparação com indivíduos saudáveis, mesmo diante da insensibilidade à ação da insulina (SEINO; SHIBASAKI; MINAMI, 2011).

As vias críticas para o desenvolvimento da resistência à insulina no metabolismo de glicose e lipídios ainda estão sendo esclarecidas e cabe salientar que, além do metabolismo intermediário da glicose e lipídios, a sinalização da insulina afeta outros processos como transporte e metabolismo de aminoácidos, síntese proteica, crescimento celular, diferenciação e apoptose. O que se sabe é que o efeito primário da insulina é estimular a translocação do transportador de glicose GLUT-4 no músculo esquelético, tecido adiposo e coração. Dessa forma, ocorre o aumento da importação de glicose da corrente sanguínea para estes tecidos (GUMÀ *et al.*, 1995). Contudo, o número de transportadores em pessoas resistentes a insulina não está diretamente alterado, mas sim a capacidade da insulina em efetuar a translocação fica interrompida.

Estudos em seres humanos e modelos animais de obesidade identificaram alterações na expressão e atividade de moléculas envolvidas na sinalização da insulina (SOMAN; DEFRONZO, 1980; SAMARAS *et al.*, 2015). Embora a base das alterações ainda seja desconhecida, foi proposto um mecanismo mediado pelo fator- α de necrose tumoral (TNF- α) com repercussão nas etapas iniciais da cascata de sinalização da insulina. O TNF- α é produzido e secretado pelos adipócitos, encontrando-se elevado em modelos de obesidade (COPPACK, 1995). Além disso, o tratamento com TNF- α reduz a sinalização de receptores insulínicos em ratos (CHEUNG *et al.*, 2000) e a redução desses níveis tem efeito oposto, aumentando a sensibilidade à insulina (UYSAL *et al.*, 1997).

A hiperglicemia, tanto no diabetes melito tipo 1 quanto tipo 2, promove o desenvolvimento de complicações (TURNER, 1998), e ainda pode auxiliar no desenvolvimento da resistência à insulina. Isso ocorre em um dos ramos menores da via glicolítica, estimulada pelo aumento de glicose: via da hexosamina. O aumento nesta via é capaz de levar a efeitos metabólicos como a diminuição da expressão da cálcio ATPase do retículo endoplasmático de cardiomiócitos, por exemplo (SHEVITZ *et al.*, 2001). Também o tratamento com hexosaminas, como a glicosamina, pode induzir a resistência insulínica nas células adiposas (MARSHALL; BACOTE; TRAXINGER, 1991) e no músculo esquelético (ROBINSON *et al.*, 1995). A via envolvida neste processo não está clara, mas a superprodução de glicosamina resultou na interrupção da capacidade da insulina de provocar translocação de GLUT-4 para superfície celular, agindo como sensor de glicose, o que

demonstra capacidade de modulação da resistência à insulina por esta via (BARON *et al.*, 1995; YKI-JÄRVINEN *et al.*, 1990)

Como ressaltado anteriormente, ambos os tipos de diabetes podem levar à desregulação da glicemia de jejum e/ou comprometimento da tolerância tecidual à insulina. O que torna interessante, mesmo para abordar aspectos do diabetes tipo 1, a discussão sobre alguns temas envolvendo o metabolismo tecidual na presença de resistência à insulina para posteriormente fundamentar a discussão sobre os resultados deste trabalho.

1.2.3.2. Metabolismo muscular no diabetes

O aumento da concentração sérica de ácidos graxos pode alterar o metabolismo de tecidos como o tecido muscular esquelético. Neste tecido, o acúmulo de ácidos graxos prejudica a captação de glicose muscular e conseqüentemente diminui a síntese de glicogênio (DEL PRATO *et al.*, 1993; FREYMOND *et al.*, 1988). Isso pode ser explicado pela hipótese de Randle (GARLAND; NEWSHOLME; RANDLE, 1964) sobre o ciclo glicose ácido-graxo, no qual os ácidos graxos competiriam com a glicose pela via oxidativa na geração de ATP. Segundo esta hipótese, o aumento de Acetil-CoA mitocondrial e o aumento da relação NADH/NAD⁺ levam à inibição da enzima piruvato desidrogenase. Estes fatores culminam no acúmulo de citrato, e inibição resultante da fosfofrutoquinase, responsável pela taxa de utilização da glicose. Como resultado destes eventos, ocorre o acúmulo intracelular de glicose-6-fostato, o que conseqüentemente reduz da captação de glicose.

Outros estudos já demonstraram também que há relação inversa entre a concentração muscular de triglicerídeos e captação de glicose por este tecido (PAN *et al.*, 1997). Mas o que desafia a teoria de Randle é o questionamento de se apenas esse acúmulo de ácidos graxos possa ser o fator causal da resistência à insulina, já que é um evento também encontrado em estados não patológicos do metabolismo muscular (RODEN *et al.*, 1996; JUCKER *et al.*, 1997). Independentemente do mecanismo, o que se constata é que há forte associação entre o nível de acúmulo de substratos energéticos e o desenvolvimento da resistência à insulina. Assim, o não incremento do fornecimento de ácidos graxos, mas o acúmulo tecidual desse substrato seria um ponto importante no desenvolvimento de uma desregulação do metabolismo tecidual no diabetes. Desta forma, o mecanismo para o acúmulo de triglicerídeos no tecido muscular esquelético está relacionado ao desequilíbrio entre a captação e oxidação

dos ácidos graxos livres e o aumento plasmático de ácidos graxos livres tem influência sobre este processo (DEL PRATO *et al.*, 1993; FREYMOND *et al.*, 1988).

Entretanto estudos demonstram que o exercício físico moderado aumenta a quantidade de triglicerídeos no tecido muscular. Isso ocorre em prol da manutenção dos estoques teciduais de glicogênio e utilização preferencial de ácidos graxos como substrato energético, o que representa melhora no quadro de resistência à insulina (CARLSON *et al.*, 1971; WANG *et al.*, 1989; GOLLNICK; SALTIN, 1982; ROMIJN *et al.*, 1993). Isso evidencia a complexidade do processo e a necessidade de mais estudos para elucidação do ciclo glicose ácido-graxo no músculo esquelético bem como a sua contribuição em processos fisiológicos e patológicos.

O metabolismo de ácidos graxos no músculo inicia-se através do transporte mediado por proteínas translocase, proteínas de ligação e proteínas de transporte de ácidos graxos (STREMMEL *et al.*, 1985; STAHL *et al.*, 2001). Sabe-se que os níveis destas proteínas podem ser regulados pelo peso corporal e modulados pela infusão de insulina (BINNERT *et al.*, 2000). Ainda alguns estudos demonstram há redução destas proteínas em indivíduos resistentes à insulina (BLAAK *et al.*, 2000). A carnitina-pamitil-transferase-1 (CPT-1) também tem sido objeto de estudo do metabolismo mitocondrial de glicose e ácidos graxos devido a sua capacidade de inibição da captação mitocondrial de ácidos graxos pela interferência nos níveis de malonil-CoA (MCGARRY, 2000).

A redução da capacidade oxidativa é observada tanto em humanos quando em animais com resistência insulínica, obesidade e diabetes melito tipo 2 (SCHRAUWEN; HESSELINK, 2004; BOIRIE, 2003). Em um estudo, a prole jovem insulinoresistente de genitores com diabetes melito tipo 2 apresentou redução de 60% da captação de glicose pelo músculo esquelético estimulada por insulina em comparação com indivíduos controle. Esse achado foi correlacionado ao aumento de aproximadamente 80% no conteúdo intramiocelular de lipídios (PEDERSEN *et al.*, 2004). Além disso, a elevação deste conteúdo intramiocelular de lipídios foi atribuída à redução de 30% na capacidade oxidativa mitocondrial. Outro achado é que os indivíduos insulinoresistentes exibiram uma proporção menor de fibras musculares tipo I em relação às do tipo II. Sabendo que as fibras do tipo I são principalmente oxidativas e as fibras do tipo II são predominantemente glicolíticas, pode-se supor que a maior presença de fibras do tipo I leva à maior capacidade oxidativa dos controles em relação aos insulinoresistentes.

1.2.3.3. Metabolismo hepático no diabetes

A distribuição de glicose no período pós-prandial depende da capacidade da insulina em estimular a captação de glicose em tecidos periféricos como o músculo e tecido adiposo. A insulina também reduz a capacidade de produção endógena de glicose que ocorre no fígado por vias não dependentes de receptor de insulina na membrana plasmática. No diabetes melito tipo 2, o problema está primariamente na regulação defeituosa da produção hepática de glicose. As vias de produção de glicose hepática são a glicogenólise e gliconeogênese, ambas estimuladas pelo glucagon e inibidas pela insulina. As altas concentrações de glicose no diabetes causam aumento na concentração intracelular de glicose, já que seu processo de captação é independente de insulina no fígado. Contudo a capacidade da insulina de reduzir a produção hepática de glicose é um importante mecanismo da manutenção da tolerância normal à glicose (STUNKARD, 1996), fator que se encontra prejudicado na doença.

O glucagon aumenta a glicogenólise através da ativação da cascata clássica da proteína cinase que envolve a proteína cinase dependente de AMPc (AMPK), assim como pelo aumento da gliconeogênese, em parte pelo do estímulo da transcrição da fosfoenolpiruvato carboxicinase (PEPCK) através da proteína de ligação do elemento responsivo ao AMPc (CREB) (MITRAKOU *et al.*, 1992; HERZIG *et al.*, 2001). Na ausência da ação da insulina, como ocorre no diabetes, a sinalização proveniente do glucagon prevalece, tornando as vias produtoras de glicose proeminentes neste tecido.

A insulina reduz a débito hepático de glicose por mecanismos diretos e indiretos. A ação direta suprime a produção de glicose pela inibição da glicogenólise através do aumento da atividade da fosfodiesterase (CHIASSON *et al.*, 1976) ou por alterações na montagem de complexos proteicos das fosfatases (NEWGARD *et al.*, 2000). A insulina também pode suprimir diretamente a gliconeogênese pela inibição da ativação da transcrição da PEPCK através da fosforilação dependente de insulina do fator de transcrição *forkhead* (Foxo1 e Foxo2), sequestrado no citoplasma (YEAGLEY *et al.*, 2001; WOLFRUM *et al.*, 2004). A segunda ação periférica importante da insulina é a diminuição dos níveis de ácidos graxos livres através da supressão da lipólise. Os ácidos graxos livres em maiores concentrações aumentam a produção hepática de glicose através do estímulo da gliconeogênese (XINHUA *et al.*, 1999), situação presente no diabetes melito tipo 2.

A resistência à insulina desempenha importante papel na hiperglicemia do diabetes melito tipo 2 (PERRIELLO *et al.*, 1997). Existe uma relação direta entre o aumento do débito hepático de glicose e o aumento da hiperglicemia em jejum. Além disso, há comprometimento

da ação da insulina em reduzir a produção hepática de glicose: quadro presente no diabetes melito (BOGARDUS *et al.*, 1984), desde os estágios iniciais no caso do diabetes tipo 2 (PIGON *et al.*, 1996). O tratamento com metformina suprime essa produção hepática de glicose, o que resulta na melhora da resistência à glicose (STUMVOLL *et al.*, 1995). Defeitos na ação da insulina em suprimir a produção hepática de glicose parecem estar relacionados ao aumento da resistência a inibição da glicogenólise, feita por este hormônio (STAEHR *et al.*, 2001). Ainda, a resistência do tecido adiposo à insulina, especialmente a gordura visceral, culmina na lipólise, e isso culmina em níveis aumentados de ácidos graxos livres (MAGNUSSON *et al.*, 1995), além prejudicar o controle da produção hepática de glicose no diabetes melito tipo 2. Também a supressão dos níveis de glucagon parece estar comprometida em humanos com resistência à insulina, levando igualmente a uma produção de glicose aumentada pelo fígado (BARON *et al.*, 1987).

1.2.4. Tratamento do diabetes melito e aspectos preventivos

Além do acompanhamento periódico de indivíduos com fatores de risco para o desenvolvimento do diabetes, inúmeros outros esforços têm sido importantes tanto na prevenção quanto no tratamento de pacientes com diabetes. A intervenção no estilo de vida tem papel central neste processo. Segundo a ADA, o paciente educado para o autocontrole desenvolve conhecimento e habilidades necessárias para prevenir crises e promover mudanças no estilo de vida (FUNNELL *et al.*, 2010). O paciente então tem papel ativo no tratamento da doença controlando a ingesta calórica, realizando exercícios periódicos e utilizando, se necessário, da farmacoterapia adequada.

Em geral, o nutriente crítico a ser controlado nesta doença é o carboidrato. A técnica de contagem de carboidratos pode ser utilizada em pacientes com diabetes melito para facilitar uma ingesta calórica mais uniforme ao longo do dia e permitir o ajuste mais fino da dose de insulina a ser administrada (GILLESPIE; KULKARNI; DALY, 1998). Cabe salientar que no diabetes melito tipo 2, a secreção de insulina em resposta a ingesta de carboidratos está prejudicada, porém a segunda fase de secreção, que pode ser estimulada pela ingestão de gorduras e proteínas, ainda pode ser eficaz, o que demonstra a importância da inclusão de proteínas e lipídios na refeição.

Também existe uma literatura substancial sustentando a capacidade do exercício de melhorar os sintomas do diabetes (KANALEY; WEINSTOCK, 2001; BOULÉ *et al.*, 2001).

A melhora na sensibilidade a insulina, a diminuição dos níveis de glicose, triglicerídeos e resultante melhora da função cardiovascular são consequências importantes da implementação de uma rotina de exercícios para esses pacientes.

Existem inúmeros fármacos além da administração de insulina exógena, que são utilizados na farmacoterapia do diabetes melito, especialmente para o diabetes do tipo 2. Dentre eles estão a metformina, a sulfonilureia, os inibidores da α -glicosidase, por exemplo.

O mecanismo da metformina é desconhecido. Sugere-se que ela esteja envolvida na regulação da AMPK, um sinal intracelular de depleção energética pela via gliconeogênica, além da estimulação da captação de glicose muscular esquelética (LONG; ZIERATH, 2006). Assim sendo, sua ação principal se dá pela redução da resistência hepática à insulina e, com isso, da produção de glicose pela gliconeogênese. Contudo, a ação periférica ainda é contraditória e necessita de mais estudos.

Os secretagogos de insulina, como a sulfonilureia, ligam-se ao seu receptor, uma subunidade do canal de potássio sensível ao ATP na membrana plasmática das células β -pancreáticas. Essa subunidade regula a atividade do canal e serve como deflagrador da secreção de insulina.

Os inibidores da α -glicosidase agem inibindo a etapa final da digestão dos carboidratos na borda em escova do epitélio intestinal e, por consequência a absorção de carboidratos torna-se mais lenta, possibilitando que a dinâmica mais lenta da secreção de insulina, característica do diabetes melito tipo 2, seja efetiva evitando picos glicêmicos.

Ainda assim, é importante lembrar que a intervenção no estilo de vida pode diminuir a dose necessária de fármacos para o tratamento do diabetes. A mudança para hábitos saudáveis, por conseguinte é ponto chave na prevenção e tratamento desta doença.

1.2.5. Comorbidades associadas ao diabetes melito

Em todas as formas de diabetes, podemos observar a presença de hiperglicemia, falta absoluta ou relativa de insulina e desenvolvimento de distúrbios microvasculares, como retinopatias, danos aos glomérulos renais e também aos nervos periféricos. Ademais, o diabetes está associado à doença macrovascular, como no desenvolvimento da aterosclerose, e consequente distúrbio microvascular, podendo acometer tanto o coração como o cérebro e os membros. Já discutimos o papel da desregulação da glicemia e o desenvolvimento de

alterações no metabolismo tecidual frente à insulina. Assim, neste segmento serão abordadas outras enfermidades mais específicas devidas as complicações do diabetes.

A hiperglicemia crônica tem papel central no desenvolvimento das complicações microvasculares no diabetes. Em especial, as células endoteliais são bastante sensíveis a este evento, isso porque o transporte de glicose nessas células não pode ser regulado; ou seja, quanto maior a concentração de glicose extracelular, maior o transporte de glicose para o interior da célula, dentre outros fatores pela hiperexpressão de GLUT-1 em ambiente hiperglicêmico (KAISER, 1993). Assim, iniciam-se as anormalidades no fluxo sanguíneo e permeabilidade vascular na retina, glomérulos e *vasa nervorum* dos nervos periféricos (SCHALKWIJK; STEHOUWER, 2005; KIHARA *et al.*, 1991). A hiperglicemia inicialmente tem consequências na produção do óxido nítrico (NO), a qual é diminuída, causando aumento da pressão sanguínea no leito capilar. De maneira secundária, o aumento de pressão possivelmente também ocorre pelo aumento de sensibilidade à angiotensina II. Os capilares da retina, do glomérulo e da *vasa nervorum* são danificados, levando à perda de visão, maior taxa de excreção de albumina (dano renal) e início do comprometimento da condução de potenciais de ação ao sistema nervoso central (perda de sensibilidade). Além do mais, eventos como acúmulo proteico na parede vascular com consequente estímulo de crescimento da matriz extracelular (KOPP *et al.*, 1996) por semanas e ativação de leucócitos circulantes (CHIEN; LI; SHYY, 1998) também contribuem para o estreitamento da parede vascular ou inclusive oclusão de vasos, incrementando a perda de função tecidual.

Em comparação com indivíduos sem diabetes, os pacientes diabéticos apresentam a progressão de complicações cardiovasculares de maneira mais rápida e extensa (GRANGER *et al.*, 1993). Não apenas pela apresentação de dislipidemias, mas a própria hiperglicemia tem papel importante nessa patogênese (ROSENGREN *et al.*, 1989) como já descrito anteriormente. Além disso, a resistência à insulina prediz o desenvolvimento de doenças cardiovasculares em especial por incrementar o risco de desenvolvimento de ateromas (YIP; FACCHINI; REAVEN, 1998)

A resistência à insulina associa-se ao perfil lipídico de elevação da lipoproteína muito de baixa densidade (VLDL), diminuição da lipoproteína de alta densidade (HDL) e aumento de LDL. Isso ocorre porque há aumento da liberação de ácidos graxos livres pelos adipócitos resistentes à insulina (GINSBERG, 2000), que estimula a secreção de VLDL ao serem depositados no fígado. O excesso de VLDL, na presença de proteína de transferência de éster de colesterol, transfere triglicérides a HDL e LDL enquanto depleta ésteres de colesterol de

HDL e LDL. Assim, a HDL resultante transporta menor quantidade de ésteres de colesterol para o fígado no transporte reverso de colesterol, e a perda de ApoA-1 dessas partículas reduz a concentração de HDL disponível para transporte reverso de colesterol. As LDL resultantes ricas em triglicerídeos e com menores quantidades de ésteres de colesterol são mais densas e menores, resultando em uma facilidade maior de oxidação na parede dos vasos, levando ao início do processo de aterogênese.

O aumento de ácidos graxos livres, causado pela resistência à insulina no tecido adiposo tem consequências nas células macrovasculares, porém não nas microvasculares. Os ácidos graxos aumentados são oxidados na mitocôndria, resultando em aumento de espécies reativas de oxigênio e ativação das vias de lesão: aumento de PKC, AGEs entre outras que ativam sinais pró-inflamatórios, além de inativarem enzimas antioaterogênicas importantes, prostaciclina sintase e óxido nítrico sintase endotelial independentemente (TEPPER *et al.*, 2002).

Além da hiperglicemia, a hipertensão, dislipidemia, obesidade e resistência à insulina são fatores de risco que tendem a ocorrer em pacientes com diabetes (WILSON *et al.*, 1999). Vários estudos, da mesma forma, mostraram a síndrome metabólica com importante fator para o desenvolvimento de doenças cardíacas (MALIK *et al.*, 2004). De qualquer forma, a hipertensão arterial sistêmica, a disfunção vascular e o aumento do risco aterosclerótico são importantes causadores de perda de função cardíaca não só por eventos agudos, como o infarto (SOBEL *et al.*, 1998), mas também por disfunção crônica, como o remodelamento mal adaptativo do ventrículo esquerdo e consequente insuficiência (IWASAKA *et al.*, 1992). Ainda, tanto a hiperglicemia quanto a resistência à insulina têm efeitos negativos sobre o metabolismo do miocárdio, além do aumento da geração de dano oxidativo. Todos esses fatores deprimem, assim, a função contrátil do coração, promovendo remodelamento patológico, redução da fração de ejeção, aumento da pressão diastólica final e assim, promovendo importantes distúrbios hemodinâmicos (DEPRE; VANOVERSCHELDE; TAEGTMEYER, 1999; KORUP *et al.*, 1997).

As comorbidades associadas ao diabetes aqui apresentadas, em suma, têm relação íntima com o quadro de hiperglicemia, dislipidemias e hipertensão resumidamente. Portanto, além do tratamento específico de cada doença, o controle da ingestão alimentar e a observação da pressão arterial têm grande importância na prevenção destas doenças que diminuem expressivamente a qualidade de vida dos pacientes com diabetes.

1.2.6. Epidemiologia

O diabetes melito é uma doença de expressiva prevalência no mundo. Em 2012 estimou-se que 1,5 milhões de mortes tiveram como causa direta o diabetes, sendo que 80% das mortes foram em países de baixa ou média renda (WHO, 2014). Já em 2014 a prevalência global da doença foi estimada em 9% em adultos com 18 anos ou mais (WHO, 2014)

Com o passar dos anos, tem-se observado aumento importante da morbidade e mortalidade associadas a esta doença. O número de pessoas com diabetes aumentou, por exemplo, de 153 milhões em 1980 para 347 milhões em 2008 e para 382 milhões em 2014 (WILD *et al.*, 2004). Dentre as causas deste aumento expressivo temos o aumento de fatores de risco como o sobrepeso e a obesidade associados ao estilo de vida sedentário especialmente para o diabetes melito tipo 2 (FINUCANE *et al.*, 2011). Um exemplo disso é o estudo feito por Tobias (2011) (**Figura 3**), o qual descreve que a glicemia tem aumentado 0,08mmol/L a cada década. Isso, segundo o autor, corresponde ao aumento na prevalência da doença de 7% aproximadamente (de 8,3% em 1980 para 9,8% em 2008 para homens e de 7,5% para 9,2% para mulheres). Além disso, este estudo foi padronizado por idade, sexo e região, e foi observado que países pertencentes à região de média e baixa renda desempenham papel protagonista neste quadro.

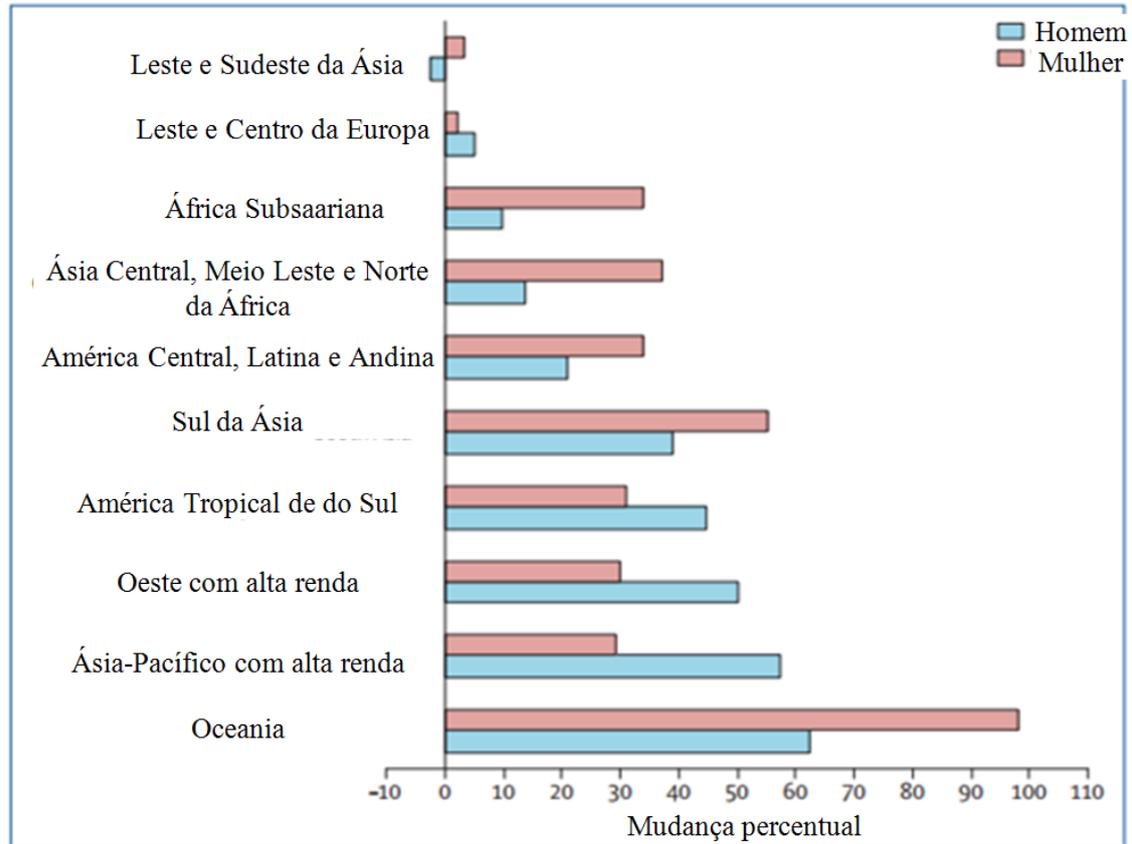


Figura 3. Acompanhamento epidemiológico entre 1980-2008 de casos de diabetes padronizados por região e sexo. (Adaptado de TOBIAS, 2011)

Segundo a organização mundial da saúde (OMS), prevê-se que em 2030 o diabetes seja a sétima causa de morte no mundo. Outros estudos preveem 592 milhões de casos de diabetes para 2035, sendo 1 caso a cada 10 pessoas (AGUIREE *et al.*, 2013).

O diabetes melito tipo 1, especificamente, tem recebido bastante atenção por parte de estudos que investigam a influencia de fatores ambientais no desenvolvimento desta doença. Isso tem ocorrido porque a sua prevalência também tem aumentado assim como a do diabetes tipo 2 (TAO; SHI E ZHAO, 2015). A mudança no padrão alimentar para alimentos industrializados e com grande carga calórica e de fácil absorvidade têm importância no aumento da incidência de obesidade em países em desenvolvimento. Assim a adiposidade central combinada ao sedentarismo tem aumentado a incidência de diabetes melito tipo 2 em populações jovens. Estes achados permitem supor que o fator ambiental também seja importante no diabetes tipo 1 (MATTEI *et al.*, 2015).

Graças ao período assintomático, o do diabetes melito tipo 2 é uma doença subdiagnosticada. Por isso, entende-se que os dados apresentados sejam ainda subestimados, o que torna o quadro epidemiológico mais preocupante (HARRIS *et al.*, 1996). Como

exemplo disso, no Brasil, especificamente, a prevalência de casos não diagnosticados em 2003 era estimada em 2% (OLIVEIRA; MILECH; FRANCO, 1996). As complicações micro e macrovasculares têm tido papel importante nas causas de morte em pacientes com diabetes (BARR *et al.*, 2007; WEI; GASKILL; HAFFNER, 1998) em especial graças a complicações cardiovasculares e renais (DANAIEI *et al.*, 2006; LAWES *et al.*, 2004; THE DECODE STUDY, 1999; NAKAGAMI, 2004; KHAW *et al.*, 2004; KLEIN, 1995). As doenças cardiovasculares eram, em 2001, a primeira causa de morte por complicações do diabetes melito, sendo que 44% são associadas ao diabetes melito tipo 1 e 52% associadas ao diabetes tipo 2. Esta causa era seguida pelas mortes por doença renal, sendo 21% devidas ao diabetes tipo 1 e 11%, ao diabetes tipo 2 (MORRISH *et al.*, 2001)

De maneira similar ao que pode ser observado no mundo, a tendência de aumento no número de indivíduos com a doença também está presente no Brasil. Isso tem grande influência do aumento na frequência de hábitos de risco, como fumo, atividade física, alimentação inadequada, sobrepeso. O Brasil, por ser classificado como um país em desenvolvimento, também contribui com o aumento nos casos de diabetes no mundo. Seguindo os critérios utilizados pela Associação Americana de Diabetes (ADA), em 1980, 7,6% de uma população de estudo de 21.847 indivíduos com idade entre 30 e 69 anos apresentaram alteração através do teste de tolerância oral à glicose, representada pela ineficiência de secreção de insulina em resposta à ingestão de glicose (MALERBI; FRANCO, 1992). Também foram realizados outros estudos específicos por região (BOSI *et al.*, 2009) (**Figura 4**), sendo que a região sudeste tem maior prevalência da doença. A cidade de São Paulo, especificamente está entre as cidades com maior prevalência de diabetes melito tipo 2 do mundo, sendo 35% dos indivíduos entre 45 e 79 anos. (GIMENO *et al.*, 2002)



Figura 4. Prevalência e tendência do diabetes em indivíduos entre 30-69 anos de idade no Brasil dividida por regiões. (Adaptado de BOSI *et al.*, 2009)

A relevância econômica do diabetes é, como consequência da ocorrência de comorbidades, preocupante. Isso pode ser comprovado porque os custos com as complicações derivadas da doença são expressivamente diminuídos através da detecção precoce e reeducação dos pacientes sobre a fisiopatologia da doença e suas complicações (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2004). No Brasil, houve aumento da atenção aos fatores de risco, o que levou ao decréscimo das mortes causadas por complicações cardiovasculares no diabetes em 2007, mas 4,3 % dos pacientes com diabetes ainda têm desordens vasculares associadas à amputação, 7,8% associadas à doença renal, 8% associadas ao infarto do miocárdio (SCHMIDT *et al.*, 2011). Desse modo, é de extrema importância o investimento em aspectos preventivos para que sejam demandados menores gastos no tratamento de pacientes com diabetes no sistema de saúde brasileiro.

1.2.7. Modelos animais de diabetes

Para o estudo de mecanismos fisiopatológicos e de tratamentos para o diabetes melito, podem ser utilizados inúmeros modelos experimentais. Para mecanismos mais específicos, podem ser utilizados ensaios com cultura de células: células β -pancreáticas, hepatócitos, células renais, entre outros tipos celulares sabidamente acometidos nesta doença. Entretanto, o uso de modelos animais faz-se necessário, uma vez que a doença tem características sistêmicas, as quais só podem ser estudadas em organismos complexos. Para tanto, implementou-se o uso de modelos animais capazes de mimetizar a fisiopatologia desta desordem, e assim podem ser estudados tanto a evolução da fisiopatologia como potenciais intervenções para melhoramento da qualidade de vida ou, inclusive, cura de pacientes com diabetes.

Os modelos mais utilizados em geral são animais com desenvolvimento de diabetes tipo 1 e tipo 2 por administração de agentes tóxicos que promovem a destruição seletiva das células β -pancreáticas, produtoras de insulina. (KRONENBERG, 2008). A droga estreptozotocina (STZ) é tóxica para as células β do pâncreas e, quando administrada em doses elevadas, induz rapidamente a morte celular levando conseqüentemente a deficiência na produção de insulina. A deficiência na produção de insulina provoca, por sua vez, a hiperglicemia crônica além das complicações associadas já descritas anteriormente.

Quimicamente a STZ é uma molécula análoga à glicose com propriedades alquilantes (DOLAN, 1997) (**Figura 5**). Normalmente ela é utilizada como droga antineoplásica bastante nociva ao DNA (BENNET; PEGG, 1981), destinada para tratamento de tumores pancreáticos (MARTINDALE, 1989). A toxicidade seletiva às células β -pancreáticas se dá através da captação específica por transportadores de glicose do tipo GLUT-2 e posterior dano à molécula de DNA e promoção de estresse oxidativo, que culminam na morte celular (ELSNER, 2007). Cabe lembrar que as células hepáticas e renais, também são acometidas por esta droga por apresentarem o mesmo transportador (LEE, 2010; ELEAZU *et al.*, 2013).

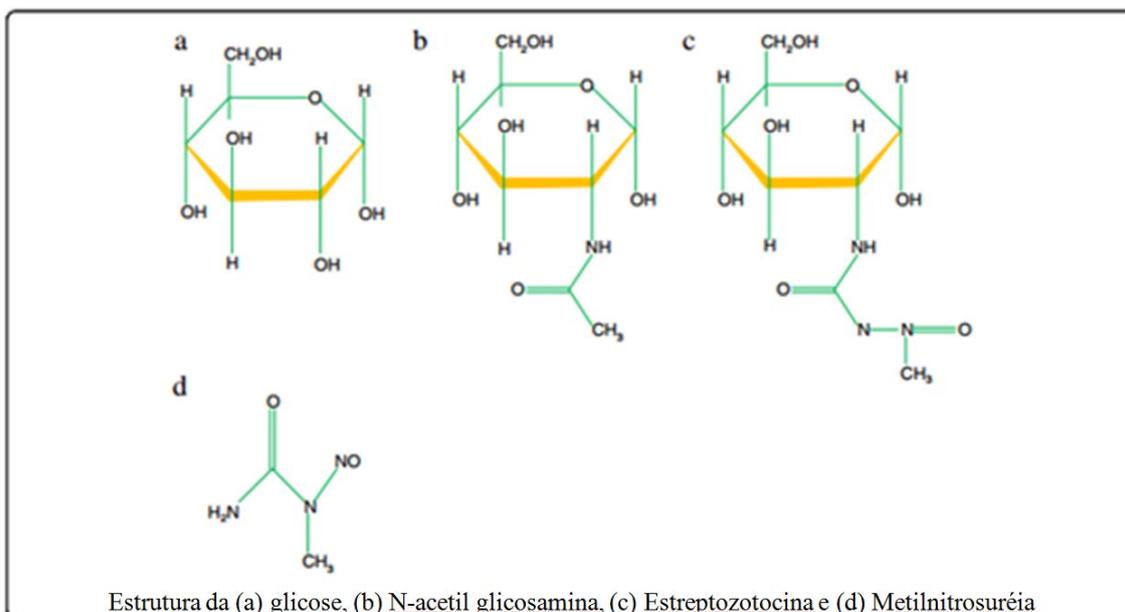


Figura 5. Similaridade das estruturas das moléculas de glicose e estreptozotocina. (Adaptado de ELSNER, 2007)

Logo após a injeção de STZ, ocorre uma expressiva liberação do conteúdo intracelular das células produtoras de insulina, causando hiperinsulinemia. Em seguida se verifica hipoglicemia severa, que pode ser a causa de morte nas primeiras horas após a administração de doses elevadas de STZ. Após poucos dias, o quadro patológico já pode ser observado pela verificação da hiperglicemia e hipoinsulinemia (KARNIELI; ARMONI, 1990). Em longo prazo, podem ser observados distúrbios metabólicos também observados na diabetogênese em humanos, como a lipólise; perda de massa corporal (ALAIN *et al.*, 1969); alterações hemodinâmicas; hipertrofia renais (EL-SEIFI *et al.*, 1987); comprometimento da atividade cardíaca (LEE *et al.*, 1992; LOGANATHAN *et al.*, 1992.; KLIP *et al.*, 1992); distúrbio no perfil lipídico (BARON *et al.*, 1976) entre outros eventos.

Assim, o uso desta substância para indução de diabetes já está bem descrito (WARD *et al.*, 2001) e é bastante eficaz na indução desta doença. Para indução de diabetes, administra-se STZ em dose única de 40-65mg/kg de peso corporal em ratos adultos e, em aproximadamente três dias, os animais apresentam glicemia acima de 250mg/dl, característica do desenvolvimento da doença (MERZOUK *et al.*, 2000). A partir de então, a fisiopatologia já pode ser acompanhada e estudada, assim como realizado neste trabalho.

1.3. Erva-Mate

A erva-mate é um produto amplamente consumido e com importante potencial terapêutico na correção de desordens metabólicas. Para melhor entendimento das propriedades biológicas desta planta, se faz necessária a revisão de tópicos relativos à importância socioeconômica, ao processamento e as características químicas dos principais compostos constituintes do mate, o qual será realizado neste segmento.

1.3.3. Aspectos Botânicos e distribuição geográfica

Ilex paraguariensis A. St.-Hil., da família das aquifoliáceas, é uma espécie nativa da América do Sul, encontrada principalmente no Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai (HECK & DE MEJIA, 2007). O Brasil é o segundo maior produtor mundial e, de acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Pesquisa (IBGE), produziu em 2007 pouco mais de 225 toneladas de erva-mate, com valor estimado em 87 milhões de reais.

As folhas e caules de *Ilex paraguariensis* são amplamente utilizados para preparar erva-mate. A erva-mate é usada para preparar quatro tipos de bebidas: o chimarrão, consumido no sul do Brasil, Uruguai, Argentina e Paraguai; o tererê, consumido na região centro-oeste do Brasil e Paraguai; o mate solúvel, um produto suave e de aroma agradável obtido a partir da “queima” da erva-mate, o qual é consumido no sul e sudeste do Brasil e Argentina na forma de bebidas refrescantes; e o chá mate, fabricado e consumido como qualquer outro chá de ervas, comercializado em sachês (BASTOS *et al.*, 2007). Atualmente, o extrato aquoso da erva-mate é consumido numa taxa de mais de um litro por dia por milhões de pessoas e socialmente constitui a principal alternativa ao hábito de consumir café ou chá (MOSIMANN *et al.*, 2006). O maior consumidor nacional de erva-mate é o estado do Rio Grande do Sul, com 65% do total, seguido pelos estados do Paraná (17%), Santa Catarina (12%) e Mato Grosso do Sul (3%) (MORAIS, 2009).

As folhas da erva-mate não são consumidas na sua forma bruta e precisam ser submetidas a vários estágios de processamento antes de estarem prontas para a comercialização. As condições de processamento são bastante variadas, dependendo de cada produtor e do objetivo final em relação ao sabor e estilo do mate (HECK; DE MEJIA, 2007). O processamento da erva mate ocorre basicamente em cinco etapas: a colheita, feita de forma manual; o sapeco, que é utilizado para evitar que as folhas da erva-mate escureçam e deve

ocorrer em no máximo 24 horas após a colheita; a secagem, que reduz a quantidade de umidade das folhas de aproximadamente 11% para 4,5%; a trituração, onde a granulometria do produto, a proporção entre folhas e caules e a adição ou não de outros compostos vai determinar o tipo comercial de erva-mate; o envelhecimento, processo em que as folhas, agora já secas, são mantidas dentro de câmaras pelo período de 12 meses para adquirir algumas características relacionadas ao sabor e aroma; e o empacotamento, em que a erva é dividida conforme a quantidade desejada e embalada (JACQUES, 2005; GIULIAN, 2005; BASTOS *et al.*, 2007; HECK; DE MEJIA, 2007). Este processo está representado na **figura 6**, que mostra o esquema de processamento da erva-mate da colheita à comercialização.

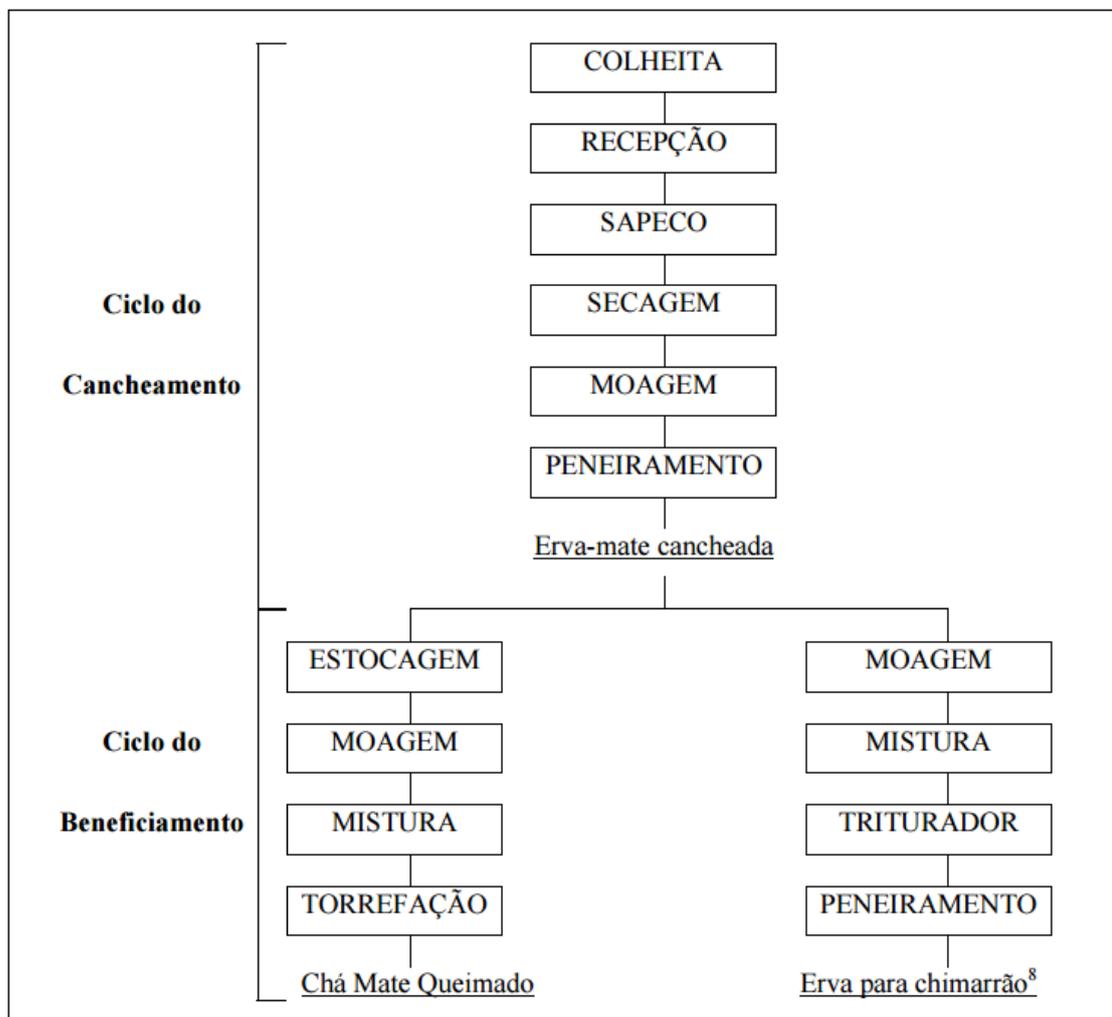


Figura 6. Processamento da erva-mate da colheita à comercialização nas formas de erva para chimarrão e chá mate (Adaptado de SILVA *et al.*, 2011 e VALDUGA, 1995)

1.3.4. Importância socioeconômica, consumo e processamento

Os primeiros registros do consumo de erva-mate datam de 1554, pelos índios Guaranis e do Guaíra. Por suas propriedades nutritivas e medicinais, desde cedo o produto despertou grande admiração tanto por parte dos povos nativos quanto dos colonizadores europeus que alcançaram o Brasil a partir do século XVI (SCHUCHMANN, 2002). Entretanto, foi no século XIX que se difundiu o antigo costume guarani, através do impulso à produção voltada para o comércio. Em suma, a exploração econômica da erva-mate intensificou-se com a chegada de colonos imigrantes ao sul do Brasil, na região de Misiones, na Argentina, e no Paraguai, locais onde é observada a concentração de ervais nativos (VASCONCELLOS, 2012).

Especificamente no Brasil, até meados do século XX, o setor ervateiro, assim como o setor primário exportador, passou por um processo de industrialização. A modernização da estrutura de produção fez com que as culturas tradicionais, tais como as geridas por pequenos produtores, fossem gradativamente deslocadas para uma posição secundária no mercado, com diminuição relativa nas quantidades físicas e no valor da produção (KICHEL, 2002; LUZ, 2011). Mais recentemente, a exploração de erva-mate perdeu espaço devido à exploração madeireira nos anos de 1950, e tendo seu auge na década de 1970, fato que levou à destruição de muitos ervais nativos, tendo em vista que até então a exploração da erva-mate era realizada principalmente através do extrativismo (LUZ, 2011). No sul do Brasil, esse processo de desmatamento dos ervais ocorreu em concomitância com o avanço das áreas de lavoura, especialmente para a produção de soja, trigo e milho. Ainda, é possível afirmar que o ciclo da erva-mate ocorreu de forma extrativista e desorganizada, com a consequente supressão dos ervais, juntamente com as florestas nativas. Assim, houve uma expressiva diminuição na oferta do produto, o que ocasionou a alta nos preços. A partir do aumento do consumo interno e a boa expectativa de negócios, fomentou-se novamente a realização de plantios homogêneos da cultura, recompondo-se as fontes de matéria-prima (ANDRADE, 2002; LUZ, 2011). Atualmente, o cultivo da erva-mate é de grande importância socioeconômica no Brasil, na Argentina e no Paraguai, uma vez que é realizado por um grande número de pequenos produtores, comunidades indígenas e por ervateiras (LUZ, 2011). Ainda, ressalta-se que a Argentina é responsável por aproximadamente 64% da produção regional, seguida pelo Brasil com 31% e pelo Paraguai com 5% (VASCONCELLOS, 2012).

A região Sul do Brasil possui, assim como outras regiões, hábitos culturais como a

prática de tomar chimarrão. Por ser uma bebida quente, estimulante e já cultivada por populações indígenas nativas mesmo antes da chegada dos europeus, a erva-mate permanece presente na vida de muitas pessoas nos estados do Sul. Assim, este hábito representa uma herança cultural, histórica e fonte de renda local importante. O chimarrão é tradicionalmente consumido por habitantes próximos aos rios Paraná, Uruguai e Paraguai, onde ainda há cultivo da planta e o seu consumo está associado à integração social (ANUÁRIO BRASILEIRO DA ERVA-MATE, 1999). Por tratar-se de uma planta nativa, o consumo do mate criou fronteiras geográficas próprias e, de certa maneira, funcionou no passado como ainda hoje, de elo cultural entre os povos dos diferentes países da região sul, bem como entre moradores de regiões diferentes de um mesmo país, como no caso dos estados do sul do Brasil.

Apesar de algumas tentativas de introduzir no mercado diferentes produtos derivados da erva-mate, foi com o chimarrão que o consumo do mate se popularizou, e só mais tarde o chá-mate assumiu importância comercial. Hoje as indústrias, em razão das preferências dos consumidores, fabricam variados tipos de erva-mate para chimarrão, desde a erva-mate pura àquelas com misturas de outras ervas, com açúcar, e outros ingredientes (BOGUSZEWSKI, 2007). Cabe lembrar que os estados do Sul e o Mato Grosso do Sul são os maiores consumidores da indústria ervateira no Brasil, demonstrando a interação entre a tradição e o consumo do chimarrão.

1.3.5. Aspectos nutricionais

Um ponto relevante a ser avaliado inicialmente é o valor nutritivo da erva-mate. A análise da composição química da erva-mate tem grande importância na avaliação da sua relevância nutricional. De acordo com a localização, composição do solo, época de colheita e processamento, a composição química tem grande variabilidade.

Segundo a Tabela de Composição de alimentos, o chá mate, por exemplo, pode ser considerado uma bebida com valor energético correspondente a 3kcal ou 11kJ/100g, não contendo gorduras e proteínas (TACO, 2011). A infusão de erva-mate processada, utilizada para a preparação do chimarrão, também é considerada uma bebida com relevância calórica, mas apresenta diminuição dos teores de gorduras, proteínas, sacarose e cafeína durante o processamento (BURGSTALLER, 1994).

Os carboidratos presentes nas folhas de erva-mate foram avaliados por Chlamtae (1955), e em seu trabalho foram descritos os carboidratos sacarose (3,33%), rafinose (0,44%),

glicose (0,27%) e frutose (0,16%). Porém essa composição pode ser alterada de acordo com a idade da folha, época de colheita e diferentes protocolos de processamento (PAREDES *et al.*, 2000).

Os minerais presentes nas folhas e na infusão têm quantidades significativas de sódio, cálcio, potássio, magnésio, manganês, ferro, zinco (SANZ; ISASA, 1991). Os valores observados a cada 100g de infusão são semelhantes ou superiores à dose diária recomendada para os minerais magnésio e manganês e contribuem com a ingestão diária de sódio, potássio, cálcio, cobre, ferro e zinco (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1998).

Além dos minerais, a erva-mate também contém vitaminas A, C, complexo B, caroteno, riboflavina, colina, ácido pantotênico, inositol e aminoácidos. Ainda, são detectados inúmeros polifenóis, que têm potencial ação antioxidante e de modulação do metabolismo da glicose (OLIVEIRA *et al.*, 2008), o que destaca as vantagens do seu uso para composição de uma dieta saudável (SHINELLA *et al.*, 2000; LUNCERFORD; GUGLIUCCI, 2005). As xantinas encontradas na *I. paraguariensis* são a teobromina e a cafeína, sendo a cafeína encontrada em maior concentração. A estas substâncias é atribuída a ação estimulante, a qual se acredita ser consequência da estimulação do sistema nervoso simpático pelo aumento da liberação de catecolaminas (YAMADA; NAKASATO, OHGA, 1989; RACHIMA-MAOZ; PELEG; ROSENTHAL, 1998), bem como se pressupõe ação direta sobre o músculo esquelético, modificando sua propriedade contrátil (SPRIET, 1995; SINCLAIR; GEIGER, 2000; DAVIS *et al.*, 2003).

Os diferentes modos de preparo da bebida também podem alterar a composição dos componentes nutricionais. Ramallo *et al.* (1998) analisaram as infusões de erva-mate quente (70°C) e fria (5°C) e os resultados sugerem uma maior concentração de glicose, sacarose, proteínas, cafeína, niacinamida, cálcio, fósforo, ferro, magnésio e potássio na infusão quente em relação à fria. (**Tabela 1**)

Tabela 1. Alteração da composição nutricional em diferentes formas de processamento da erva-mate

Componentes	Mate Quente		Mate Frio		IDR	(%) Mate quente	(%) Mate frio
	Valor médio	Desvio Padrão	Valor médio	Desvio Padrão			
Composição Geral – g							
Glicose	0,59+	0,41	0,15	0,04	-		
Sacarose	2,77+	0,53	1,19	0,5	-		
Proteínas	2,14+	0,39	1,24	0,52	50,0	4,3	2,5
Cafeína	0,85+	0,08	0,44	0,35	-		
Vitaminas – mg							
Vitamina C	5,11	2,78	2,35	0,13	60,0	8,5	3,9
Tiamina (B1)	1,48	1,86	0,15	0,10	1,4	105,7	10,7
Niacinamida	1,27+	0,68	n.d	---	18,0	7,1	
Piridoxina (B6)	0,94	0,97	n.d	---	2,0	47,0	
Minerais – mg							
Cálcio	80,94+	9,78	43,90	19,45	800,0	10,1	5,5
Fósforo	45,89+	6,31	21,27	8,70	800,0	5,7	2,7
Ferro	2,22+	0,34	1,10	0,46	14,0	15,9	7,9
Magnésio	58,58+	7,57	33,17	13,64	300,0	19,5	11,1
Potássio	100,59+	18,32	41,63	16,85	-		
Sódio	14,04	2,45	11,07	4,11	-		

n.d. = não detectado e + = diferenças significativas entre o mate quente e o mate frio. ($P < 0,5$).

(Original de RAMALLO *et al.*, 1998)

Os dados nutritivos bem como a composição química demonstram a importância desta planta na alimentação. Ainda, inúmeras propriedades biológicas vêm sendo estudadas. Portanto, há enorme potencial de investigação do uso da erva-mate e sua ação sobre o metabolismo de indivíduos normais e acometidos por enfermidades.

1.3.6. Aspectos químicos e propriedades biológicas

As condições de processamento, como o tempo e a temperatura utilizados nas etapas de secagem, além de outros parâmetros como o sexo da planta, a variabilidade genética e o tipo de solo, água e fertilizantes, podem variar entre os diversos produtores e têm influência direta sobre a qualidade, as características sensoriais e a quantidade de substâncias bioativas do produto final (RESENDE *et al.*, 2000; BASTOS *et al.*, 2007). A disponibilidade dessas substâncias bioativas nas bebidas também depende da solubilidade dos compostos envolvidos

e de como o mate é preparado (tempo de extração e temperatura) e ingerido (GIULIAN, 2005).

Entre os principais constituintes químicos do mate destacam as metilxantinas, polifenóis e saponinas. Metilxantinas são denominadas alcalóides purínicos de caráter anfótero, representadas principalmente pela cafeína, teobromina e teofilina, e apresentam atividade estimulante no sistema nervoso central (RATES, 2010). Derivados cafeoilquínicos e flavonóides são os polifenóis de maior abundância encontrados no mate e aos quais são atribuídos vários efeitos, principalmente antioxidante (HECK *et al.*, 2008). As saponinas, por sua vez, são metabólitos secundários com característica anfifílica presente em altos teores nas folhas e principalmente nos frutos imaturos dessa espécie apresentando inúmeras atividades biológicas (PAVEI *et al.*, 2007).

Na última década, houve aumento dos estudos com o mate e suas propriedades biológicas, como antioxidante, anti-mutagênica, anti-inflamatória e, sobretudo, anti-obesidade (BRACESCO *et al.*, 2011). Muitos trabalhos realizados com erva-mate e modelos experimentais de obesidade induzida por dieta em ratos (ARÇARI *et al.*, 2009; HUSSEIN *et al.*, 2011; PANG *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2011) ou mesmo seres humanos (DE MORAIS *et al.*, 2009) têm mostrado efeito na redução da gordura e peso corporal, melhoria de níveis plasmáticos de triglicerídeos, colesterol e glicose, além da regulação de expressão gênica envolvida no metabolismo lipídico. Entretanto, existem na literatura divergências e dados contraditórios relativos a essa atividade do mate.

Inúmeros estudos têm mostrado que a *Ilex paraguariensis* têm propriedades antioxidantes, hipocolesterolêmica, hepatoprotetora, diurética, cardioprotetora, além de outras ações como prevenção de dano ao DNA e peroxidação da proteína de baixa densidade (LDL). (FILIP *et al.*, 2000; SCHINELLA *et al.*, 2000; GUGLIUCCI, MENINI, 2002; LUNCEFORD; GUGLIUCCI, 2005; MOSIMANN; WILHELM-FILHO; DA SILVA, 2006; PANG; CHOI; PARK, 2008; FILIP; FERRARO, 2003; GONZALEZ *et al.*, 1993; BRACESCO *et al.*, 2003; *et al.*, 2008; GUGLIUCCI; STAHL, 1995). Diante disso, o potencial uso na terapêutica e na indústria dos compostos derivados da erva-mate tem aumentado, levando a pesquisas na área para melhora das formas de preparação de produtos para uso comercial (FRANCINI *et al.*, 2015) (**Tabela 2**)

Tabela 2. Preparação de produtos na indústria utilizando a erva-mate como matéria prima

Aplicação Industrial	Sub-Produtos Comerciais	Forma de Consumo
Bebidas	Chimarrão e tererê Chá mate: queimado, verde ou cozido, Mate solúvel	Infusão quente ou fria
	Refrigerantes e sucos; cerveja; vinho	Extrato de folhas diluído
Insumos de alimentos	Corante natural e conservante alimentar	Clorofila e óleo essencial
	Sorvete, balas, bombons, chicletes e gomas	
Medicamentos	Estimulante do sistema nervoso central	Extrato de cafeína e teobromina
	Compostos para tratamento de hipertensão, bronquite e pneumonia	Extratos de flavonóides
Higiene Geral	Bactericida e antioxidante hospitalar e doméstico Esterilizante e emulsificante	Extrato de saponinas e óleo essencial
	Tratamento de esgoto Reciclagem de lixo urbano	
Produtos de uso pessoal	Perfumes, desodorantes, cosméticos e sabonetes	Extrato de folhas seletivo e clorofila

(Original de FRANCINI *et al.*, 2015)

Entretanto, a elucidação dos mecanismos pelos quais os compostos da erva-mate têm ação biológica ainda se faz necessária. Portanto, o estudo da ação destes compostos em diferentes tecidos *in vivo* assume o papel de conectar a teoria e os ensaios *in vitro* com a terapêutica através da descrição dos seus efeitos no organismo saudável ou acometido por alguma doença.

1.3.6.1. Os polifenóis e sua ação biológica

Os polifenóis são espécies químicas que apresentam porções hidroxila ligadas a um anel aromático. Podem ser classificados em diferentes grupos pela sua função, número de anéis fenólicos ou estruturas com as quais fazem ligação, como ácidos carboxílicos e orgânicos, aminas, lipídios (KONDRATYUK; PEZZUTO, 2004).

Estes fenóis são produzidos naturalmente em plantas, frutas, cereais (SCALBERT *et al.*, 2005), e têm o papel de proteção contra a radiação ultravioleta e agressão de patógenos (BECKMAN, 2000). Graças a essas propriedades, os polifenóis têm recebido atenção de inúmeros pesquisadores que estudam sua ação no organismo de mamíferos, e têm sido

demonstradas ações protetoras contra o câncer, doenças cardiovasculares, diabetes, osteoporose e doenças neurodegenerativas (GRAF; MILBURY; BLUMBER, 2005; ARTS; HOLLMAN, 2005) (**Figura 7**)

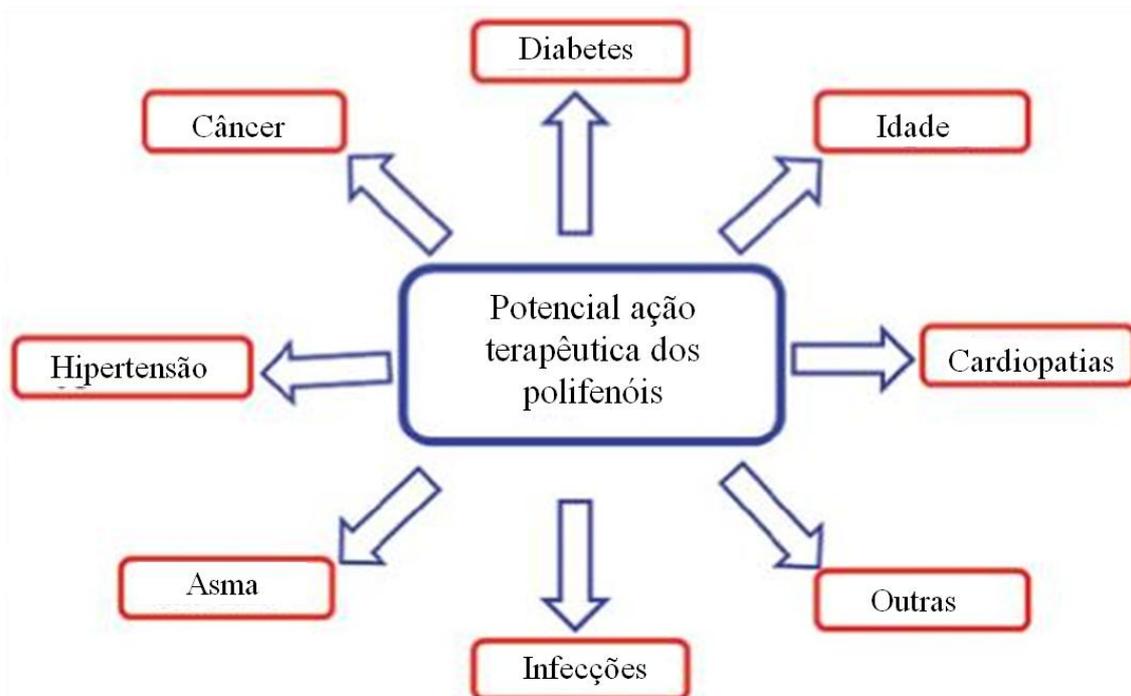


Figura 7. Benefícios potenciais dos polifenóis com interesse terapêutico (Adaptado de PANDEY; RIZVICOR, 2009)

Com a erva-mate não é diferente. Foram identificados inúmeros compostos fenólicos, como ácido cafeico, ácido cafeicoquínico, rutina (BASTOS *et al.*, 2007), sendo estes em maior quantidade; além de quercetina e campferol em menor concentração (PERES *et al.*, 2013). Além disso, a *Ilex paraguariensis* é a espécie que apresenta maiores quantidades de flavonóides e derivados de cafeoil em comparação a demais espécies do mesmo gênero, como *I. brevicuspis*; *I. theezans*; *I. microdonta*; *I. dumosa var. dumosa*; *I. taubertiana*; *I. pseudobuxus*; *I. integerrima*; e *I. argentina*.

Diante disso, as propriedades antioxidantes da erva-mate têm recebido expressiva atenção de estudos em diferentes modelos, tanto em cultivo celular e estudos *in vivo* com animais e humanos (MIRANDA *et al.*, 2008; GUGLIUCCI, 1996; MATSUMOTO *et al.*, 2009). Os polifenóis presentes no extrato de erva-mate estão presentes em grande quantidade e possuem capacidade antioxidante intrínseca (DUDONNÉ *et al.*, 2009)

Quanto à proteção frente a genotoxicidade, a erva-mate tem efeito importante, já que diferentes pesquisas têm relatado a função protetora contra o dano ao DNA (BRACESCO *et al.*, 2003). Pesquisas realizadas em organismos mais simples, como leveduras, comparam a função de proteção do mate à do chá-verde, conhecido pela ação antioxidante. Neste estudo, o mate demonstrou-se protetor quando avaliado o dano ao DNA e a lipídios (BRACESCO *et al.*, 2003). Em estudo com camundongos, após 2 meses de tratamento com extrato aquoso, o dano ao DNA foi avaliado nos rins, fígado e bexiga através do ensaio cometa. Em todos os tecidos, após a exposição a um agente oxidante, o DNA apresentou-se menos danificado nos animais tratados com o extrato de erva-mate (MIRANDA *et al.*, 2008).

O estresse nitrosativo, causado por espécies reativas de nitrogênio, também tem grande importância na função celular, e quando exacerbado, tem ação danosa do mesmo modo que o dano por espécies reativas de oxigênio. Em um trabalho comparativo entre diferentes extratos naturais, como o de erva-mate, chá-verde e vinho tinto, o extrato de *Ilex paraguariensis* demonstrou o maior percentual de inibição de estresse oxidativo ao estabilizar radicais livres, seguido do extrato de vinho tinto e chá-verde respectivamente. Também apresenta maior proteção contra dano proteico por espécies de nitrogênio (BIXBY *et al.*, 2005). A proteção contra o dano por lipoperoxidação é a propriedade antioxidante mais estudada no extrato de erva-mate. Em modelos mais complexos, voluntários tratados com a ingestão do extrato de mate possuem menores índices de peroxidação lipídica no fígado e em eritrócitos (GUGLIUCCI, 1996). Ainda, o uso tópico do extrato em modelo de colite ulcerativa em ratos Wistar foi benéfico em avaliando-se aos níveis de malondialdeído (MDA), que foram menores em animais que receberam o tratamento com enema contendo extrato e erva-mate (CUNHA *et al.*, 2011). Ainda, em se tratando de modelos animais, ratos Sprague-Dawley com dieta hiperlipídica e tratados com a ingestão de extrato de erva-mate, obtiveram melhora, não só em parâmetros como peso corporal e perfil lipídico sanguíneo, mas também apresentaram menor dano lipídico no fígado avaliado pelo método de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em comparação com os animais que receberam apenas a dieta hiperlipídica (GAO *et al.*, 2013). Isso corrobora estudos que evidenciam a diminuição da progressão da aterosclerose na aorta e melhoramento do perfil lipídico de coelhos submetidos à dieta hiperlipídica, o que provavelmente tem como mecanismo a prevenção do dano a lipídios por estresse oxidativo (MOSIMANN; WILHELM-FILHO; DA SILVA, 2006).

Com humanos, graças à expressiva população habituada com o consumo do extrato de mate, e conseqüente facilidade em encontrar voluntários para os estudos, também são feitos inúmeros trabalhos. Matsumoto *et al.* (2009) avaliou, a partir de amostras de sangue prévias e

posteriores ao tratamento por sete dias de mate, a resistência a oxidação: voluntários que ingeriram mate obtiveram os melhores resultados de acordo com o autor. O mesmo foi observado em um estudo que avaliou também o nível de peroxidação lipídica de amostras de plasma antes e logo após o consumo de mate. O grupo que recebeu tratamento apresentou menores níveis de peroxidação lipídica após a ingestão de mate, o que representa a presença do efeito agudo da ingestão deste extrato além do efeito crônico (GUGLIUCCI, 1996).

Assim, o extrato de *Ilex paraguariensis* tem se demonstrado eficaz em sua ação antioxidante em diferentes modelos, a qual é atribuída expressivamente aos polifenóis contidos na erva-mate. Na evolução do diabetes, o quadro de estresse oxidativo a diferentes estruturas celulares já é bem conhecido, o que estimula a busca pela elucidação dos efeitos que o extrato de erva-mate pode exercer sobre indivíduos acometidos por esta doença, bem como a prevenção do desencadeamento da síndrome metabólica associada especificamente ao diabetes tipo 2.

1.3.6.2. As xantinas e sua ação biológica

Outros compostos importantes para o estudo das propriedades da erva-mate são alcalóides com ação estimulatória, como xantinas e metilxantinas representadas pela cafeína e teobromina.

Acredita-se que a ação da cafeína em diversos tecidos envolve a estimulação do sistema nervoso simpático, a liberação de catelocalinas a partir da glândula suprarrenal, além da ação estimulatória direta em alguns tecidos como musculo esquelético (SPRIET,1995; SINCLAIR, 2000; DAVIS *et al.*, 2003). Assim, muitas propriedades biológicas do mate podem ser atribuídas a estes compostos.

Na espécie *Ilex paraguariensis*, diversos estudos já identificaram níveis consideráveis de compostos de alcaloides purínicos, como a cafeína e teobromina (PERES *et al.*, 2013; MURAKAMI *et al.*, 2013; BOJIĆ *et al.*, 2013; STRASSMANN *et al.*, 2008; MURAKAMIA *et al.*, 2013). Ainda, dentre as demais espécies do mesmo gênero, a erva-mate é a que apresenta maiores níveis de xantinas (KIM *et al.*, 2010).

Sabendo disso, a ação estimulatória descrita pelo consumo de erva-mate pode ser devida à alta concentração de alcalóides purínicos nesta planta e a ação estimulante destes compostos sobre o sistema nervoso simpático, o qual tem consequências sistêmicas já que além de inervação direta, promovem a liberação de catecolaminas pela medula da glândula

suprarrenal na circulação. É de amplo conhecimento que a elevação de catecolaminas circulantes tem ações sobre diversos tecidos. No músculo cardíaco, por exemplo, a ação simpática promove melhoramento da função de bomba cardíaca, além de aumentar o retorno venoso pelo aumento no tônus vascular, o que contribui para o aumento da contratilidade, frequência cardíaca, e conseqüentemente o débito cardíaco. Para o músculo esquelético, ocorre direcionamento mais expressivo de volume sanguíneo, o que, além da utilização de estoques de glicogênio, promove melhoramento da contração muscular. Do mesmo modo, no tecido hepático, também há maior degradação do estoque de glicogênio, levando ao aumento do fornecimento de glicose para a circulação. No tecido adiposo, por sua vez, ocorre aumento da degradação do estoque de lipídios através da lipólise, o que também contribui para o maior fornecimento de substratos energéticos circulantes na forma de ácidos graxos livres (AIRES, 2012).

Inúmeros estudos têm direcionado atenção a estas propriedades estimulatórias. Isso porque a ação lipolítica das catecolaminas no tecido adiposo seria de interesse para o controle de peso em populações com alto índice de obesidade. Ainda, diversos modelos experimentais, como cultivo celular, camundongos, ratos e humanos, têm encontrado efeitos muito consistentes em relação a este aspecto (RESENDE *et al.*, DICKE; RATES; RITTER, 2007; HUSSEIN *et al.*, 2011; PIMENTEL *et al.*, 2013; GAO *et al.*, 2013; LIMA *et al.*, 2014; PANG; CHOI; PARK, 2008)

Em cultivo celular, estudos têm descrito a capacidade do extrato de mate de inibir a diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos maduros, dentre outros fatores através da redução da capacidade de acumulação de triglicerídeos no citoplasma dos adipócitos (GAMBERO; RIBEIRO, 2015). Segundo estes autores, tal efeito seria devido à modulação dos compostos do mate sobre vias de adipogênese, já que reduz a expressão de genes suprarregulados em indivíduos obesos. Além disso, alguns trabalhos têm utilizado a erva-mate como controle positivo para inibição de diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos maduros (YOON *et al.*, 2015).

Em camundongos, são descritos a perda de peso corporal, diminuição do índice de massa corporal, menor ingesta calórica e aumento de moléculas sinalizadoras de saciedade circulantes (leptina) após três semanas de ingesta de mate, mesmo após a ingesta de dieta rica em gordura (HUSSEIN *et al.*, 2011). Em ratos com obesidade induzida por dieta rica em gordura, além dos mesmos efeitos descritos para camundongos, também foram avaliados genes marcadores para síntese de lipídios (PIMENTEL *et al.*, 2013; GAO *et al.*, 2013). Houve, ainda, a inibição do ganho de peso em ratos com dieta hiperlipídica, melhoramento do

perfil lipídico, atenuação da hiperfagia, e diminuição de marcadores inflamatórios sabidamente aumentados em ratos obesos (LIMA *et al.*, 2014; PANG; CHOI; PARK, 2008).

Resende *et al.*, (2015) avaliaram a ação de extratos específicos da erva-mate. A fração rica em metilxantinas foi capaz de melhorar o perfil lipídico, reduzir a lipogênese, aumentar a lipólise no tecido adiposo, além de reduzir da gordura abdominal. Entretanto o efeito no metabolismo de lipídios não foi exclusivo do extrato de metilxantinas, mas também ocorreu aumento da excreção fecal de gorduras na fração rica em saponinas. Todavia, houve também aumento da lipogênese no tecido adiposo diante do tratamento com a fração de saponinas. Assim, os achados deste estudo corroboram a hipótese de que o extrato de erva-mate, em especial a fração de metilxantinas, tem grande influência na mobilização de estoques de lipídios nos depósitos de gordura corporais (RESENDE *et al.*, 2015)

Dentre plantas popularmente utilizadas para perda de peso, a *Ilex paraguariensis* se destaca por ter dados clínicos apresentados que demonstram a melhora no perfil lipídico e melhoramento do controle glicêmico na população de Porto Alegre (DICKE; RATES; RITTER, 2007). Em um estudo com voluntários saudáveis, através da técnica de ultrassonografia, andersen e Fogh (2001) demonstraram que a ingestão do extrato de erva-mate por 45 dias em cápsulas padronizadas levou a perda de peso e diminuição da velocidade de esvaziamento gástrico, o que concorda com as propriedades observadas em estudos com cultivo celular e modelos animais. Lembrando que este estudo utilizou, além de *Ilex paraguariensis*, cápsulas com guaraná e damiana (ANDERSEN; FOGH, 2001)

Todos esses achados são bastante condizentes principalmente com a hipótese de ação das metilxantinas no metabolismo de lipídios levando a diminuição da adiposidade abdominal, além da perda de peso corporal. Esses fatos, portanto, tornam ainda mais relevante o estudo da ação deste extrato na patogênese do diabetes, que sabidamente tem grande ligação com o desenvolvimento de dislipidemias e/ou síndrome metabólica (ALBERTI *et al.*, 2008)

1.3.6.3. As saponinas e sua ação biológica

Outro grupo de compostos presentes no extrato de *Ilex paraguariensis* são as saponinas (MURAKAMI *et al.*, 2013). Saponinas são compostos anfipáticos ligados a estruturas glicosídicas e com capacidade de interação com diversos compostos hidrofóbicos. As matesaponinas são as maiores representantes das saponinas do mate. Martinet *et al.* (2001)

descreveu a também a presença de diversos tipos de saponinas do mate derivadas da matesaponinas 1 e 2 com diferenças apenas na porção glicosídica.

Como foi observado no estudo de Resende *et al.* (2015), a fração rica em saponinas derivada da erva-mate possui propriedades importantes no metabolismo de lipídios, já que foi capaz de aumentar a excreção fecal de gordura, mesmo que tenha havido um aumento na lipogênese no tecido adiposo. Além disso, os estudos realizados com a ingestão de extrato bruto podem apresentar desfechos dependentes da ação de saponinas, o que ainda precisa ser mais bem elucidado.

Assim, a ação anti-obesidade da fração de saponinas permanece ainda em estudo, o que é de grande importância para a investigação do efeito da erva-mate sob desregulações metabólicas que envolvem o metabolismo de lipídios, assim como ocorre no diabetes.

1.3.6.4. Efeito da erva-mate sobre o metabolismo de carboidratos

O efeito da erva-mate sobre o metabolismo de carboidratos em diferentes tecidos tem sido alvo de inúmeros estudos (KLEIN *et al.*, 2011; HUSSEIN *et al.*, 2011; MARTINET; HOSTETTMANN; SCHUTZ, 1999). Os extratos de erva-mate, tanto tostado quanto não tostado, foram capazes de inibir *in vitro* a ação de dissacaridases no tratamento agudo, além de melhorar a performance no teste de tolerância oral à glicose *in vivo* (PEREIRA *et al.*, 2012). Pereira *et al.* (2012) e Oliveira *et al.* (2008) estudaram o efeito da erva-mate sobre a absorção intestinal de glicose. Nestes trabalhos, ratos com diabetes induzida por aloxano não apresentaram diferenças significativas nos níveis de glicose ou insulina sanguíneas nem na atividade da glicose-6-fosfatase hepática; entretanto, houve diferença na expressão do transportador de glicose-sódio (SGLT-1) intestinal, sendo que os animais tratados com erva-mate apresentaram menores níveis deste transportador (OLIVEIRA *et al.*, 2008)

Camundongos obesos (espontaneamente ou induzidos por dieta) submetidos ao tratamento com *Ilex paraguariensis*, por sua vez, apresentaram em diferentes trabalhos a redução dos níveis de glicose sanguínea após tratamento crônico, além do melhoramento no perfil lipídico já lembrado anteriormente neste trabalho (HUSSEIN *et al.*, 2011). A resistência à insulina também foi melhorada em camundongos obesos segundo Arçari *et al.* (2013), além de diminuir os níveis de produtos de glicação sanguíneos.

Martinet, Hostettmann e Schutz (1999) verificaram a mudança no coeficiente respiratório em voluntários apenas momentos após a ingestão de mate em comparação com o

placebo, indicando efeito duradouro neste parâmetro após ingestão. Segundo o autor, a alteração na oxidação de lipídios poderia explicar este fenômeno, porém mais estudos devem ser feitos a fim de confirmar esta hipótese.

Na fisiopatologia do diabetes, é evidente a importância da regulação adequada do metabolismo de carboidratos, já que grande parte das doenças associadas a esta doença são consequências da desregulação no metabolismo destes compostos. Assim, a interferência do mate nesses parâmetros confirma a necessidade de estudos envolvendo o uso terapêutico e preventivo da erva-mate no diabetes.

1.3.6.5. Toxicidade

Para o devido cuidado com a sugestão da utilização de plantas na terapêutica e prevenção de doenças, é de extrema importância descrever o grau de toxicidade dos compostos presentes em produtos naturais, como a erva-mate. Pittler, Schmidt e Ernst (2005) ressaltaram a quantidade de estudos controversos envolvendo compostos naturais utilizados popularmente na perda de peso, o que impulsionou o aumento no número de estudos de toxicidade destas substâncias antes de indicar a utilização popular apenas com base em estudos controlados em animais e cultura de células.

Com o mesmo intuito, de andrade *et al.* (2012), estudou a toxicidade do uso da erva-mate através da administração crônica em coelhos *New Zealand* e Ratos Wistar. Segundo o autor, após avaliação de parâmetros sorológicos, histopatologia, índice de sobrevivência e consumo de água e comida, foi possível concluir que o uso da erva-mate não apresenta riscos tanto mediante administração única quanto crônica do extrato de mate (ANDRADE *et al.*, 2012). Os ensaios controlados com os extratos de mate, portanto, não apresentam riscos de toxicidade aos animais durante a experimentação em laboratório.

Como complemento, Bortoluzzi *et al.* (2014) avaliaram a frequência de micronúcleos nas células epiteliais da mucosa oral de voluntários. O que se verificou foi que, após ingestão diária de erva-mate, sendo duas vezes ao dia, não houve aumento de dano ao DNA após tratamento com mate. Alves *et al.* (2008) também investigaram a genotoxicidade da erva-mate, em um estudo que avaliou o efeito da erva-mate em linfócitos de mulheres voluntárias. Após a coleta, a cultura celular de linfócitos foi tratada com infusão de erva-mate, que não promoveu nenhuma diferença no ensaio de micronúcleos entre os tempos pré e pós-tratamento.

Não obstante, como foi descrito anteriormente, estudos demonstram inclusive uma ação protetora contra danos a lipídios e DNA celulares, o que corrobora a segurança do uso deste extrato em animais de laboratório e voluntários saudáveis.

2. OBJETIVO E HIPÓTESE

Está bem estabelecido que o diabetes está associado a uma série de distúrbios clínicos que envolvem a alteração no metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídios. Isso acarreta distúrbio oxidativo, disfunção metabólica e prejuízo funcional em diversos tecidos, culminando na expressiva taxa de morbidade e mortalidade dessa doença.

O esforço científico para o tratamento e prevenção dessa enfermidade com alta prevalência em países ocidentais levou a procura por substâncias de ação sistêmica benéfica aos padrões alterados nesta doença: hiperglicemia, dislipidemias, alto nível de distúrbio oxidativo, bem como se fez necessária a busca por substâncias que afetem a função tecidual alterada nos vasos, fígado, rins, sistema nervoso presente no diabetes.

A erva-mate tem apresentado grande potencialidade para utilização preventiva e terapêutica no diabetes, uma vez que apresenta propriedades biológicas benéficas a inúmeros parâmetros alterados na fisiopatologia da doença. Além disso, o consumo de *Ilex paraguariensis* é bastante difundido em países como Brasil, Paraguai, Uruguai e Argentina, o que facilita o estudo de seu efeito em humanos, além da possibilidade de uso preventivo e terapêutico. Outro ponto são os testes de toxicidade feitos em animais controle e humanos saudáveis, que indicam a segurança no uso agudo ou crônico para experimentação em animais ou humanos.

Assim sendo, diante da prevalência expressiva do diabetes e da potencialidade de ação terapêutica do extrato de erva-mate, o objetivo deste trabalho foi elucidar o efeito da administração do extrato de mate em ratos Wistar diabéticos, tendo como foco o metabolismo tecidual muscular e hepático. Objetivo este gerado pela hipótese de que a erva-mate, graças as suas propriedades benéficas, é capaz de atenuar/melhorar parâmetros metabólicos alterados nos ratos diabéticos.

2.1. Objetivos específicos

❖ Avaliar o efeito da erva-mate sobre o metabolismo pelo estudo específico de parâmetros sorológicos, musculares e hepáticos.

- ❖ Avaliar o efeito da erva-mate sobre os parâmetros sorológicos indicadores do metabolismo sistêmico de carboidratos e lipídios, de toxicidade hepática e do estado nutricional.

- ❖ Avaliar o efeito da erva-mate sobre o estado metabólico hepático.

- ❖ Avaliar o efeito da erva-mate sobre o estado metabólico muscular.

3. MATERIAL E MÉTODOS

As técnicas descritas a seguir foram realizadas no Laboratório de Metabolismo e Endocrinologia Comparada (LaMEC), localizado no Instituto de Ciências Básicas da Saúde (ICBS): campus central da Universidade Federal do Rio Grande Do Sul (UFRGS), em Porto Alegre.

3.1. Animais

Foram utilizados 36 Ratos Wistar machos, com 60 dias de vida, provenientes do Centro de Reprodução e Experimentação de Animais de Laboratório (CREAL) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Os animais foram mantidos em biotério setorial sob condições padrão de biotério: ração e água *ad libitum*, ciclo claro/ escuro de 12 horas e lotação máxima de 4 animais por caixa alojamento.

Após período de aclimação, foram separados em 4 grupos experimentais: controle sem tratamento (CTR), controle tratados com extrato aquoso de erva-mate (CTR-Mate), diabéticos sem tratamento (DBT) e diabéticos tratados com extrato aquoso de erva-mate (DBT-Mate); sendo cada grupo composto por 9 animais (n=9).

Os animais destinados aos grupos DBT e DBT-Mate foram realojados em caixas com lotação de 3 animais por caixa em decorrência do aumento da frequência urinária, do consumo de água e ração característicos em animais com diabetes.

3.2. Indução do diabetes e acompanhamento

Após a separação em grupos experimentais, foi realizada a indução de diabetes nos grupos DBT e DBT-Mate através de injeção intraperitoneal única de estreptozotocina na dose de 65mg/kg diluída em 1 ml de tampão citrato. Os animais controle (CTR e CTR-Mate) receberam o mesmo volume de tampão citrato por injeção intraperitoneal.

A verificação do desenvolvimento da doença foi feita através da avaliação da glicose sanguínea dois dias após a indução, sendo a glicemia superior a 250mg/dl característica da efetividade da indução do modelo de diabetes (PACKER *et al.*, 2000) e utilizada como critério de inclusão no grupo com a doença.

A maravalha de todas as caixas (Controles e Diabéticos) foi trocada diariamente com a finalidade de manutenção das condições mínimas de estresse, em especial em razão dos animais diabéticos aumentarem consideravelmente o volume urinário. Ainda, o acompanhamento do peso corporal, volume de água e ração disponíveis, além do monitoramento de sinais de estresse foram feitos por indivíduos treinados em prol da manutenção do bem-estar animal.

3.3. Preparo do extrato aquoso de erva-mate e tratamento

Verificada a efetividade da indução do modelo de diabetes, foi iniciado o tratamento com o extrato aquoso de erva-mate. Apenas o chá foi disponibilizado no bebedouro dos animais pertencentes aos grupos CTR-Mate e DBT-Mate, sendo que os demais grupos mantiveram o consumo de água. A composição do extrato aquoso de erva-mate, conforme já avaliada por nosso grupo no trabalho de Silva *et al.* (2011), colhida no mesmo período do ano (janeiro) e submetida às mesmas etapas de processamento, está descrita na **tabela 3**

O preparo do chá iniciou-se com a mistura na proporção de 70g de erva-mate comercial Barão de Cotegipe (Lote /12/14/3) a cada 1 litro de água previamente aquecida a 80°C. A mistura foi agitada e, após 15 minutos, filtrada, resfriada e fracionada, sendo 1 litro fornecido para cada caixa alojamento. O chá destinado ao grupo DBT-Mate foi diluído 3 vezes em relação ao destinado ao grupo CTR-Mate, tendo em vista o maior consumo hídrico dos animais diabéticos e objetivando a padronização da dose ingerida diariamente por todos os animais. Ainda, a administração ocorreu sempre no início da fase escura do ciclo de luz do biotério, repetida diariamente por 1 mês e acompanhada do monitoramento dos animais.

Tabela 3. Análise da composição química do extrato comercial (ervateira Barão de Cotegipe) de erva-mate.

	Erva-mate comercial ($\mu\text{g/mL}$)
Saponinas totais	313,5 \pm 4,42
Polifenóis totais	5786,1 \pm 65,85
Metilxantinas totais	893,17 \pm 5,77
Cafeína	743,26 \pm 7,31
Teobromina	149,9 \pm 2,12

Tabela adaptada de Silva *et al.* (2011)

3.4. Aspectos éticos, eutanásia e processamento dos tecidos

Ao final do tratamento com o extrato aquoso de erva-mate, os animais foram eutanasiados por decapitação, em virtude da importante alteração dos parâmetros metabólicos gerados pelos demais métodos de eutanásia. Os tecidos foram coletados para análise da morfometria e utilizados imediatamente ou estocados, conforme a necessidade da análise, para verificação de parâmetros bioquímicos no soro e ensaios de metabolismo tecidual. Foram coletados e processados para este projeto, o sangue, fígado, músculo sóleo, tecido adiposo retroperitoneal e tecido adiposo epididimal.

Todos os procedimentos deste projeto foram guiados pelo guia eutanásia da associação americana de medicina veterinária em sua edição de 2013 (AVMA, 2013) e aprovados pelo Comitê de Pesquisa e Ética em saúde do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) sob o número 09-055 e o projeto possui registro no sistema de pesquisa da UFRGS sob número 18709. Ainda, os responsáveis pelo manuseio dos animais passaram por treinamento prévio e possuem experiência com o protocolo experimental e a com a prática de eutanásia.

3.5. Morfometria e relação tecido/peso corporal total

O fígado, tecido adiposo retroperitoneal e epididimal e músculo sóleo foram retirados, secos em papel filtro e pesados. A relação entre o peso do tecido e o peso corporal total foi utilizada para a avaliação do efeito da erva-mate sobre a morfometria dos tecidos utilizados no experimento.

3.6. Avaliação de parâmetros no soro

O sangue foi coletado em tubo de coleta contendo gel separador e ativador de coágulo (Vacutube®), o qual possibilita a obtenção da amostra de soro com maior qualidade e facilidade de manuseio. O soro foi utilizado para determinação de diversos parâmetros, são eles, as concentrações de glicose, triglicerídeos, colesterol, HDL-colesterol, LDL, VLDL, uréia, creatinina, transaminases hepáticas e proteínas totais através de kits comerciais

(LabTest). Os níveis de insulina foram verificados por kit comercial pela técnica de ELISA (Millipore)

3.7. Captação de Glicose

Para a avaliação da captação de glicose, o músculo sóleo esquerdo foi pesado, fatiado e colocado em um tubo contendo 1000µl de solução fisiológica (Krebs-Ringer Bicarbonato) com 0,1 µCi de 2-deoxi-D-[1-¹⁴C]-glicose (55mCi/mmol -Amersham International). Os tubos foram mantidos em gelo e a fase gasosa foi substituída por O₂ e CO₂ nas concentrações 95% e 5%, respectivamente. A incubação do ensaio de captação ocorreu em banho metabólico do tipo Dubnoff sob agitação constante por 1 hora à temperatura de 37°C. Os tecidos foram, então, lavados com Ringer Bicarbonato, secos em papel filtro e separados para posterior hidrólise e contagem da quantidade de glicose captada pelo tecido (Tecido). O meio de incubação foi reservado para verificação da quantidade de glicose não captada (Meio).

A medida da radioatividade foi feita após adição de líquido de cintilação em contador LKB-Wallac e os resultados da captação foram expressos pela razão Tecido/Meio, conforme Machado *et al.* (1991).

3.8. Oxidação de glicose

Para mensurar a produção de CO₂, síntese de lipídios e de proteínas, aproximadamente 100 mg de tecido (fígado e músculo sóleo) foram fatiados e irrigados com solução fisiológica gelada (KRB). Em seguida, os tecidos foram secos em papel filtro e colocados em tubos tipo 'penicilina' com 1,0 mL KRB mais 5 mM de glicose fria e 0,1 µCi [U-¹⁴C] glicose (Amersham International). A fase gasosa foi mantida utilizando-se carbogênio (O₂: CO₂, 95:5% v/v). Os tubos foram vedados com tampa de borracha onde se acoplou um vidro em formato de "J" com um poço central, na qual era inserido uma tira de papel 3MM para captação do CO₂ resultante da oxidação da glicose marcada. A incubação foi realizada a 37°C durante 1 hora em banho metabólico Dubnoff (60 ciclos/min). A reação de oxidação foi interrompida injetando-se 0,25 mL de TCA 50% no meio de incubação e 0,25 mL de NaOH nos poços centrais, através da tampa de borracha. A reação de "captação do ¹⁴CO₂" ocorreu

overnight. Após este período, o conteúdo do centro do poço foi coletado e transferido para vials com líquido de cintilação e a radioatividade foi medida utilizando contador LKB-Wallac para determinar a formação do $^{14}\text{CO}_2$ marcado.

3.9. Conversão tecidual de glicose em glicogênio

Após o ensaio de oxidação, uma porção do tecido hepático e o músculo sóleo direito foram destinados para a avaliação da produção de glicogênio a partir de glicose marcada, sendo que a massa de tecido hepático destinada para este fim foi novamente verificada por pesagem.

Os tecidos foram expostos a uma solução de KOH 30% em banho-maria a 100°C para degradação do tecido e extração do glicogênio tecidual. Posteriormente o glicogênio foi obtido por precipitação em etanol 96° e lavagem com água destilada. O glicogênio resultante foi solubilizado em água e líquido de cintilação. A quantidade de glicogênio constituído de carbono marcado (^{14}C -glicogênio) foi mensurada em contador LKB-Wallac.

3.10. Conversão tecidual de glicose em lipídios

A porção restante de tecido hepático proveniente da oxidação foi destinada para a mensuração da síntese de lipídios a partir de glicose marcada. O tecido foi pesado, homogeneizado em uma solução de clorofórmio-metanol, sendo 2 volumes de clorofórmio para 1 de metanol. Posteriormente foi adicionada salina (NaCl 0,9%), a solução homogeneizada e a fase superior foi retirada para o processo de evaporação. Após a evaporação, o conteúdo lipídico marcado resultante no recipiente foi solubilizado em líquido de cintilação e os lipídios constituídos de carbono marcado (^{14}C -Lipídios) foram mensurados em contador LKB-Wallac.

3.11. Avaliação do conteúdo de glicogênio tecidual

Uma amostra de tecido hepático foi destinada para análise da concentração tecidual de glicogênio. Para tanto o tecido foi exposto a KOH 30% em banho-maria a 100°C , o

glicogênio foi precipitado em solução alcoólica, lavado em água destilada e convertido a glicose por exposição a HCl 4M em banho maria a 100°C. A glicose resultante foi medida através de kit comercial colorimétrico (LabTest®).

3.12. Avaliação do colesterol tecidual

Para determinação da concentração tecidual de colesterol, uma amostra de tecido hepático foi homogeneizada em solução salina (NaCl 0,9%). Foi acrescentado ácido tricloroacético (50%) à amostra, que após foi centrifugada e o sobrenadante retirado. Ao produto sedimentado foi acrescentada uma solução de clorofórmio-metanol (2:1), sendo este processo repetido 3 vezes, e em todas as repetições o sobrenadante foi reservado. O sobrenadante reservado passou por volatilização e a porção restante no recipiente foi solubilizada em salina para avaliação de colesterol por kit comercial colorimétrico (LabTest).

3.13. Avaliação de triglicerídeos teciduais

Para determinação da concentração de triglicerídeos tecidual, uma amostra de fígado foi homogeneizada em salina (NaCl 0,9%) na proporção 100mg de tecido para 1ml de salina. A verificação dos triglicerídeos foi feita através de kit comercial colorimétrico (LabTest).

3.14. Biossegurança

O descarte de resíduos químicos não tóxicos ocorreu no sistema de esgoto comum. Os demais resíduos como o resto de material biológico e resíduo químico tóxico foi encaminhados ao Centro de Tratamento de Gestão de Resíduos Biológicos ou Químicos da UFRGS para procedimento correto de eliminação. O projeto possui matrícula no CNEN AP 0942 e os resíduos radioativos também foram descartados conforme a norma para gerência de rejeitos radioativos de baixo e médio níveis de radiação (Norma CNEN NN 8.01 Resolução CNEN 167/14, Abril / 2014).

3.15. Análise Estatística

O tamanho da amostra foi calculado com a utilização do programa Minitab (versão 15) utilizando como base para cálculo os resultados de protocolos experimentais de nosso laboratório e de outros grupos de pesquisa levando em consideração o desvio padrão encontrado nos grupos de diferentes experimentos que utilizaram protocolos semelhantes (PEDROSO *et al.*,2010; RESENDE *et al.*,2012; SILVA *et al.*,2011).

A avaliação da distribuição normal (gaussiana) foi feita pelo teste de normalidade Shapiro-Wilk, indicado para amostras reduzidas.

Para variáveis com distribuição gaussiana, foi utilizado o teste ANOVA. A ANOVA mista foi utilizada para o acompanhamento de variáveis ao longo do tempo em diferentes grupos experimentais. A ANOVA de duas vias foi utilizada para comparação entre grupos com mais de um fator em avaliação e foi seguida pelo pós-teste de Bonferroni. Os resultados foram avaliados quanto à fonte de variação (modelo, tratamento e interação modelo-tratamento) e as comparações múltiplas descritas como aumento ou diminuição da média em relação aos demais grupos.

Para variáveis que não apresentaram distribuição normal e mais de um fator em avaliação, utilizou-se o teste Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn.

Em todas as análises foi utilizado o programa GraphPad Prism ® versão 6.01 e estabelecidos a significância e o poder estatístico de 0,05 e 95% respectivamente.

3.16. Desenho experimental

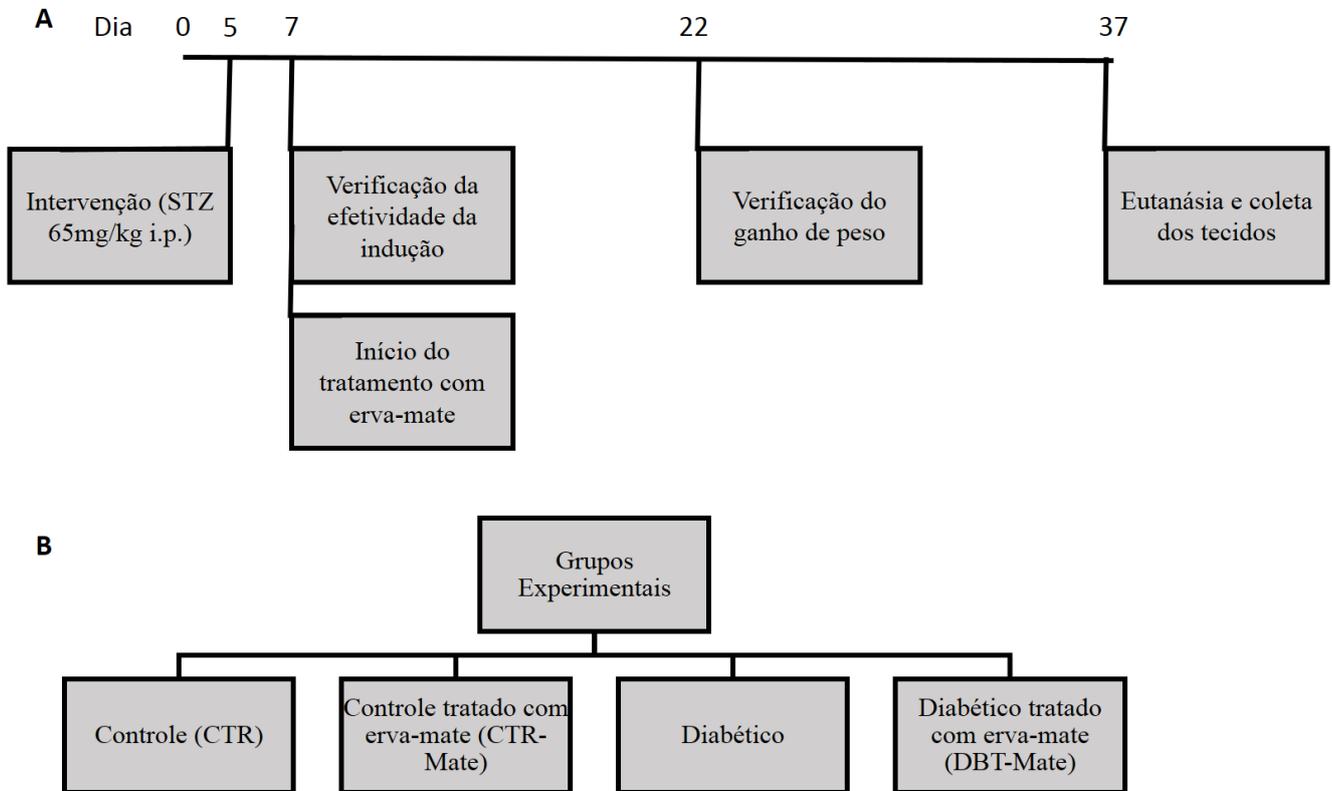


Figura 8. Desenho experimental ao longo do tempo (A) e quanto à distribuição nos grupos experimentais (B).

4. RESULTADOS

4.1. Acompanhamento do peso corporal

Para verificação do tratamento em relação ao diabetes, foram acompanhados o peso e a glicemia dos animais, bem como a observação da manifestação de características como poliúria, polidipsia, polifagia, mudança do padrão da pelagem, sempre por pesquisadores treinados e visando a prática do bem-estar animal. Assim sendo, esses parâmetros foram verificados previamente e posteriormente à indução do diabetes, no dia da eutanásia, junto às demais análises deste trabalho. A glicemia dos animais verificada dois dias após a indução apresentou valores acima de 300 mg/dl. Em alguns animais, inclusive foram verificados acima da faixa de precisão do glicosímetro, o que confirma a efetividade da indução da doença.

Como pode ser observado na **figura 9**, nos fatores tempo e grupo experimental foram observados fonte de variação. Ainda, pela análise estatística, foi observada a presença de interação entre os fatores grupo e tempo ($P < 0,0001$). No tempo “Intervenção (STZ)”, não foi observada diferenças entre as médias dos grupos experimentais. Entretanto, após 10 dias de tratamento com extrato aquoso de erva-mate foi observada diferença entre as médias, sendo o modelo de diabetes a fonte de variação e não o tratamento (Mate) ($P < 0,0001$). O mesmo ocorreu 30 dias após o início do tratamento com extrato aquoso de erva-mate ($P < 0,0001$).

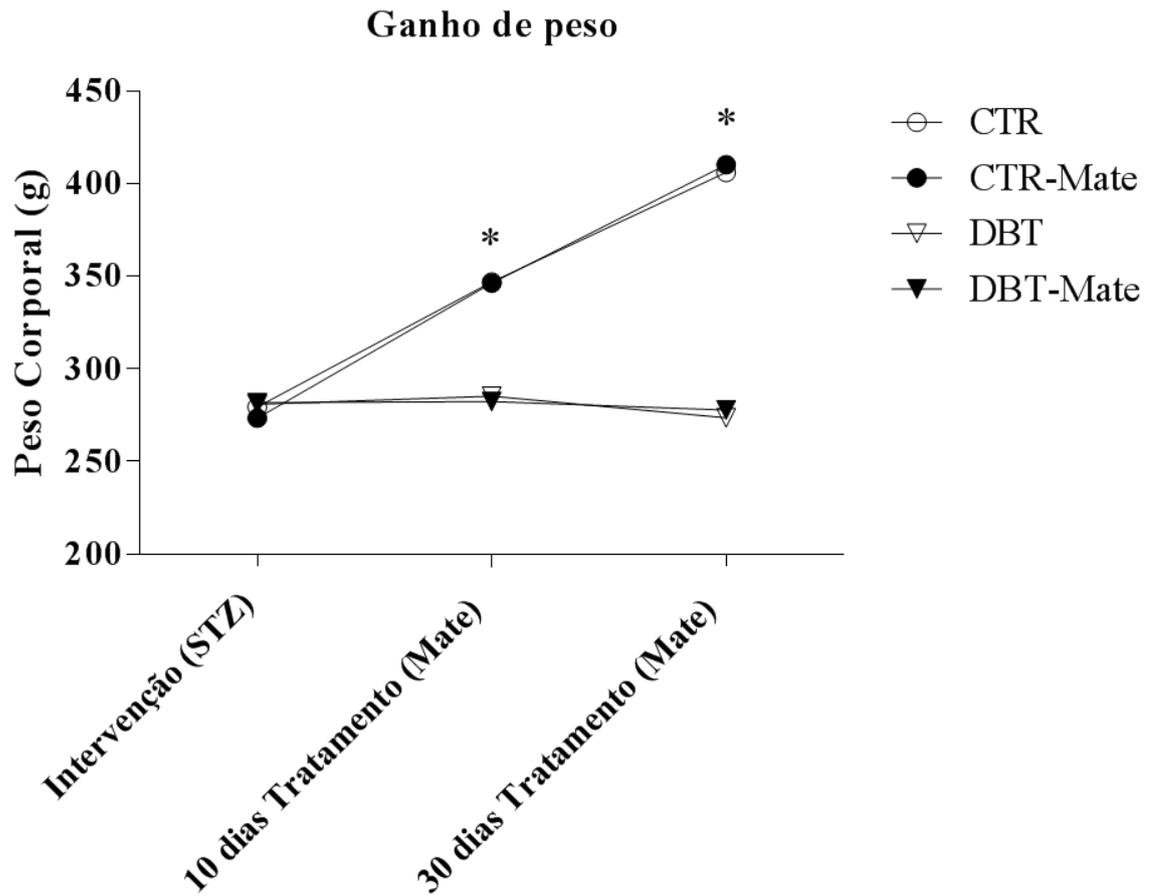


Figura 9. Efeito do tratamento com extrato aquoso de erva-mate sob o ganho de peso em ratos submetidos ao modelo de diabetes. Os dados foram avaliados por ANOVA mista, sendo que os valores estão apresentados como média \pm desvio padrão. (*) representa diferença entre quaisquer dos grupos CTR, CTR-Mate, DBT e DBT-Mate. São consideradas significativas as diferenças com $P \leq 0,05$. $n=9$ por grupo experimental.

4.2. Parâmetros Morfométricos

A **tabela 4** descreve os parâmetros morfométricos avaliados imediatamente após a eutanásia dos animais. Foram avaliados os parâmetros peso corporal total (PCT) e as relações entre o peso do tecido adiposo retroperitoneal (TAR), tecido adiposo epididimal (TAE), fígado (F) e músculo sóleo (MS); em relação ao peso corporal total dos respectivos animais. O Peso Corporal Total apresentou variações significativas em relação ao modelo de diabetes quando comparado aos animais controle, sendo que houve uma diminuição do PCT nos grupos Diabetes e Diabetes-Tratamento em comparação aos grupos Controle e Controle-Tratamento. O índice TAR apresentou como fonte de variação tanto o modelo de diabetes quanto a interação entre os fatores diabetes e tratamento, sendo que houve diminuição significativa do índice TAR nos grupos Diabetes e Diabetes-Tratamento. O índice TAR também se mostrou diminuída no grupo Controle-Tratamento em comparação ao grupo Controle. O índice TAE apresentou como fonte de variação o modelo de diabetes, sendo que os grupos Diabetes e Diabetes-Tratamento apresentam valores menores frente aos grupos Controle e Controle-Tratamento. O índice F apresentou-se diminuído nos grupos Diabetes e Diabetes-Tratamento, o que demonstra o modelo como fonte de variação. O índice MS, por sua vez, tem como fonte de variação o modelo de diabetes e há aumento significativo na MS do grupo Diabetes-Tratamento em relação ao grupo Diabetes.

Tabela 4. Efeito do tratamento com extrato aquoso de erva-mate em parâmetros morfométricos de ratos submetidos ao modelo de diabetes.

Parâmetro	Grupo Experimental				ANOVA
	CTR	CTR-Mate	DBT	DBT-Mate	
PCT (g)	406,8 ± 36,37	410,2 ± 24,84	273,7 ± 26,58 ^{a,b}	277,9 ± 34,29 ^{a,b}	# (P<0,0001)
Índice TAR *10⁴	75,46 ± 15,35	62,25 ± 10,85 ^a	6,29 ± 1,96 ^{a,b}	7,84 ± 4,58 ^{a,b}	# (P<0,0001) & (P=0,0347)
Índice TAE *10⁴	9,70 ± 1,49	8,86 ± 1,20	3,37 ± 1,40 ^{a,b}	3,91 ± 1,87 ^{a,b}	# (P<0,0001)
Índice F *10²	3,33 ± 0,36	3,27 ± 0,13	4,03 ± 0,27 ^{a,b}	4,12 ± 0,14 ^{a,b}	# (P<0,0001)
Índice MS *10³	0,91 ± 0,187	1,01 ± 0,06	0,87 ± 0,27	1,12 ± 0,20 ^c	# (P=0,0070)

Os dados foram avaliados por ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Bonferroni, sendo as fontes de variação representadas por (#) modelo, (*) tratamento, (&) interação modelo e tratamento e (NS) variação não significativa. Os valores estão apresentados como média ± desvio padrão, sendo (^a) diferença em relação ao grupo CTR, (^b) CTR-Mate e (^c) DBT. São consideradas significativas as diferenças com $P \leq 0,05$. n=9 por grupo experimental. Peso corporal total (PCT) e suas relações entre o peso do tecido adiposo retroperitoneal (TAR), tecido adiposo epididimal (TAE), fígado (F) e músculo sóleo(MS).

4.3. Parâmetros séricos

Para acompanhamento de parâmetros sabidamente alterados no diabetes, como glicemia, perfil lipídico, insulina, e fatores indicativos de toxicidade hepática e função renal, foram analisadas as amostras de soro coletadas durante a eutanásia (**tabela 5**) quanto à glicemia, perfil lipídico (frações de HDL-colesterol, LDL, VLDL, colesterol total, triglicerídeos), níveis de insulina, transaminases hepáticas, ureia, creatinina e proteínas totais. Sendo os três primeiros indicadores do metabolismo sistêmico de carboidratos e lipídios, e os últimos indicadores de toxicidade hepática, dano renal e estado nutricional respectivamente.

Os parâmetros glicemia, insulina, triglicerídeos e colesterol apresentaram como fonte de variação o modelo de diabetes, havendo diferença dos grupos DBT e DBT-Mate em relação aos grupos CTR e CTR-Mate. Entretanto, houve variação em relação ao tratamento e interação entre os fatores tratamento e modelo no parâmetro glicemia, onde houve uma diminuição da concentração sanguínea de glicose nos animais do grupo DBT-Mate em comparação ao grupo DBT. A concentração de HDL-colesterol apresentou variação relativa ao modelo de diabetes onde o grupo DBT-Mate apresentou níveis diminuídos em comparação aos grupos CTR e CTR-Mate. Os níveis de LDL e VLDL não apresentaram fontes de variação nem diferença entre as medianas dos grupos.

Quando aos níveis de ureia, houve variação referente ao modelo e à interação entre modelo e tratamento, além de haver aumento destes níveis no grupo DBT em comparação ao grupo CTR. A concentração de creatinina apresentou o modelo e o tratamento como fontes de variação, sendo que o grupo DBT apresentou valores menores em comparação aos grupos CTR-Mate e DBT-Mate, porém valores iguais aos do grupo CTR. Ainda o grupo DBT-Mate apresentou níveis maiores de creatinina em relação ao grupo DBT e iguais aos dos grupos CTR e CTR-Mate.

Não houve diferença entre as medianas na atividade de AST/TGO entre os grupos. Porém a atividade de ALT/TGP apresentou variação relativa ao modelo, tratamento e interação modelo e tratamento, sendo que o grupo DBT-Mate demonstrou valores maiores quanto comparados aos demais grupos experimentais.

A concentração de proteínas totais, por fim mostrou variação referente ao modelo de diabetes, onde o grupo DBT-Mate apresentou valores menores frente ao grupo CTR-Mate, mas iguais aos grupos CTR e DBT.

Tabela 5. Efeito do tratamento com extrato aquoso de erva-mate sob parâmetros sorológicos em ratos submetidos ao modelo de diabetes.

Parâmetro	Grupo Experimental				ANOVA
	CTR	CTR-Mate	DBT	DBT-Mate	
Glicemia (mg/dl)	119,3 ± 8,58	124,9 ± 14,55	626,4 ± 78,73 ^{a,b}	548,2 ± 40,84 ^{a,b,c}	#(P<0,0001) *(P=0,0219) &(P=0,0090)
Insulina (ng/ml)	1,54±0,71	1,36±0,74	0,33±0,03 ^{a,b}	0,42±0,09 ^{a,b}	#(P<0,0001)
Triglicerídeos (mg/dl)	110,0 ± 38,14	80,16 ± 22,26	358,0 ± 101,15 ^{a,b}	353,7 ± 222,25 ^{a,b}	#(P<0,0001)
Colesterol (mg/dl)	128,0 ± 23,26	133,8 ± 24,39	218,8 ± 58,98 ^{a,b}	214,3 ± 40,33 ^{a,b}	#(P<0,0001)
HDL-colesterol (mg/dl)	4,858 ± 0,48	4,853 ± 0,44	4,206 ± 0,45	3,864 ± 0,58 ^{a,b}	#(P<0,0001)
LDL (mg/dl)	101,2 ± 20,23	112,9 ± 24,34	104,4 ± 41,41	139,8 ± 26,00	NS
VLDL (mg/dl)	20,00 (16/29)	14,86 (12/20,43)	76,00 (58,86/136,1)	59,71 (44,72/89,57)	Sim (P<0,0001)
Uréia (mg/dl)	70,61 ± 16,09	83,51 ± 15,15	100,7 ± 17,81 ^a	89,21 ± 13,00	#(P<0,0001) & (P=0,0257)
Creatinina (mg/dl)	0,17 ± 0,03	0,22 ± 0,03	0,13 ± 0,03 ^b	0,20 ± 0,02 ^c	#(P=0,0462) *(P=0,0001)
AST/TGO (U/l)	205,2 (183,3/222,6)	244,4 (209,5/296,8)	157,1 (128,8/253,2)	353,6 (181,2/473,6)	Não (P=0,1260)
ALT/TGP (U/l)	100,4 (76,38/161,5)	113,5 (104,8/165,9)	122,2 (104,8/353,6)	205,2 (139,7/445,2) ^a	Sim (P=0,0112)
Proteínas Totais (g/dL)	6,14 ± 0,83	6,43 ± 0,31	5,66 ± 0,47	5,65 ± 0,56 ^b	#(P=0,0032)

Os dados paramétricos foram avaliados por ANOVA de duas vias seguida do pós-teste de Bonferroni, sendo as fontes de variação representadas por (#) modelo, (*) tratamento, (&) interação modelo e tratamento e (NS) variação não significativa. Os dados não paramétricos foram submetidos a avaliação pelo teste de Kruskal-Wallis seguido do pós-teste de Dunn. A diferença entre as medianas foi destacada como presente (sim) ou ausente (não). Os valores estão apresentados como Média ± Desvio Padrão ou Mediana (Percentil 25/Percentil 75), sendo (^a) diferença em relação ao grupo CTR, (^b) CTR-Mate e (^c) DBT. São consideradas significativas as diferenças com $P \leq 0,05$. n=9 por grupo experimental.

4.4. Metabolismo Hepático

Quanto à concentração hepática de triglicerídeos (**Figura 10**), apenas no modelo de diabetes foi observada fonte de variação na concentração tecidual de triglicerídeos ($P=0,0084$), não havendo fonte de variação do tratamento ($P=0,6036$) nem da interação ($P=0,4111$) nos fatores de estudo. Não foram observadas diferenças significativas entres os grupos experimentais através do teste de comparações múltiplas

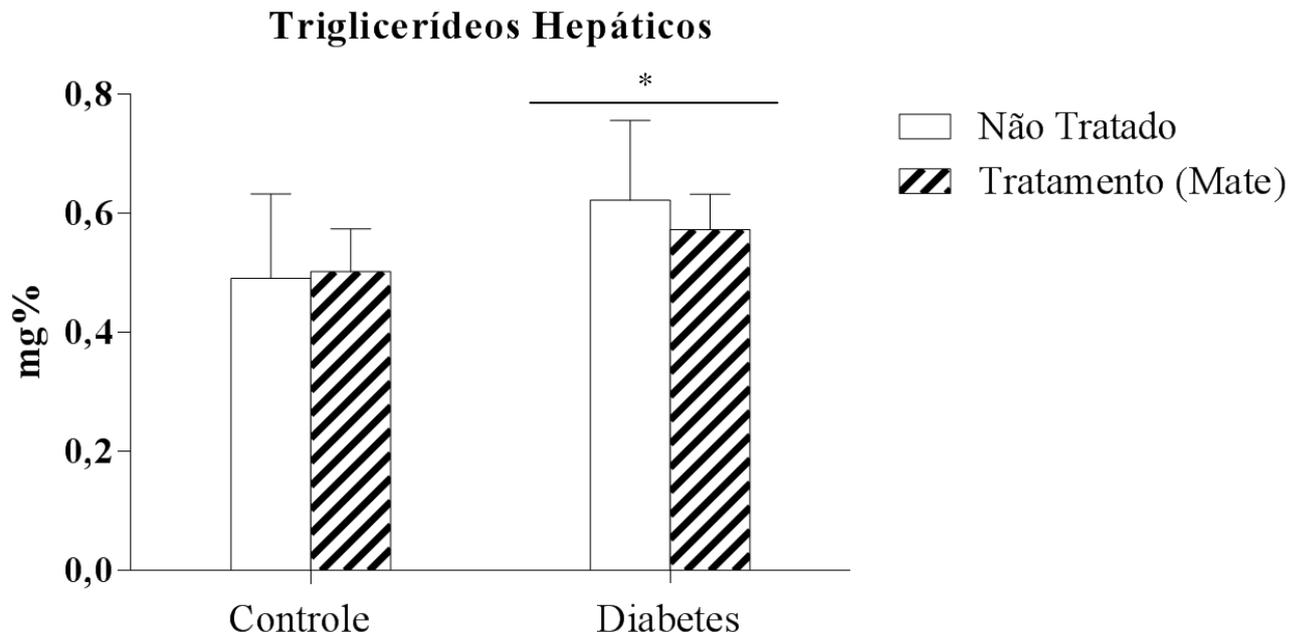


Figura 10. Efeito do tratamento com extrato aquoso de erva-mate sob a concentração de triglicerídeos hepática em ratos submetidos ao modelo de diabetes. Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão. $n=9$ por grupo. Variação referente ao modelo experimental (*)

Avaliando a concentração tecidual hepática de colesterol (**Figura 11**) houve diferenças significativas entre os grupos. Houve variação relativa ao tratamento ($P=0,0051$) e interação modelo-tratamento ($P=0,0193$); entretanto, o modelo não se apresentou como fonte de variação ($P=0,1372$). O grupo DBT apresentou menor concentração de colesterol tecidual em comparação aos demais grupos, sendo que o grupo DBT-Mate não difere dos controles.

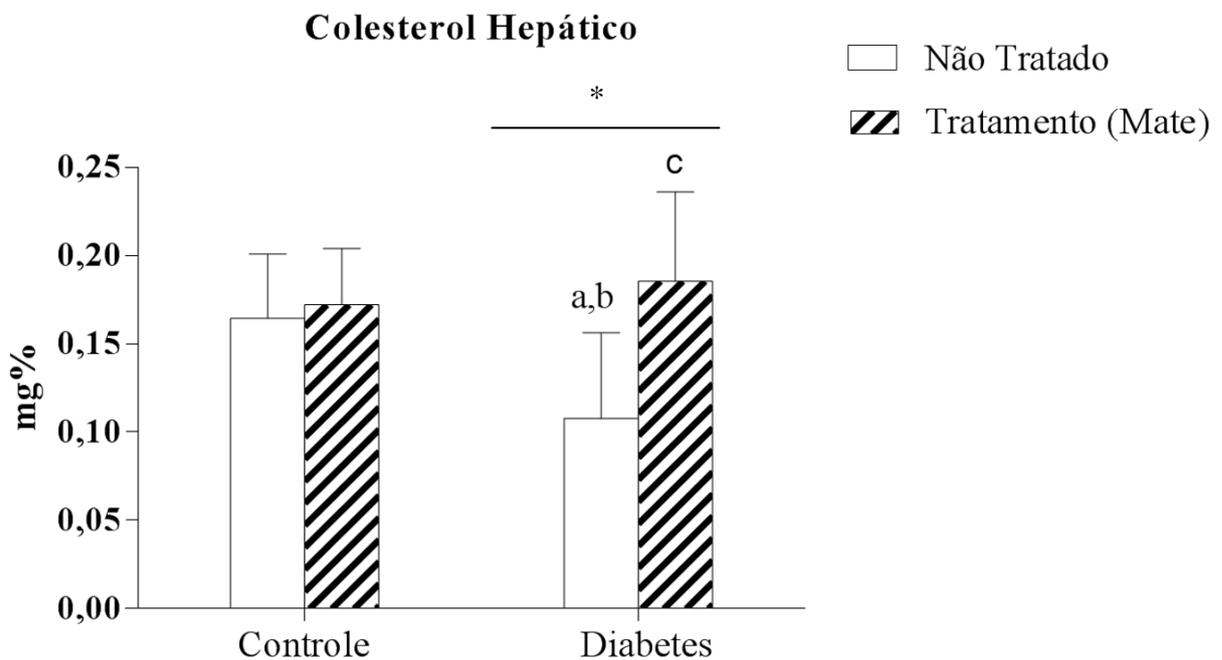


Figura 11. Efeito do tratamento com extrato aquoso de erva-mate sob a concentração de colesterol hepática em ratos submetidos ao modelo de diabetes. Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão, sendo (a) diferença em relação ao grupo CTR, (b) CTR-Mate e (c) DBT. São consideradas significativas as diferenças com $P \leq 0,05$. $n=9$ por grupo. Variação referente ao modelo experimental (*)

Avaliando-se a oxidação tecidual hepática de glicose pela produção de CO₂ (**Figura 12**) os grupos Diabetes e Diabetes-Tratamento apresentaram maiores valores de oxidação tecidual em comparação grupos Controle e Controle-Tratamento, mostrando que a única fonte de variação observada estatisticamente foi a do modelo (P<0,0001), mas não o tratamento (P=0,6607) nem a interação (P=0,6081).

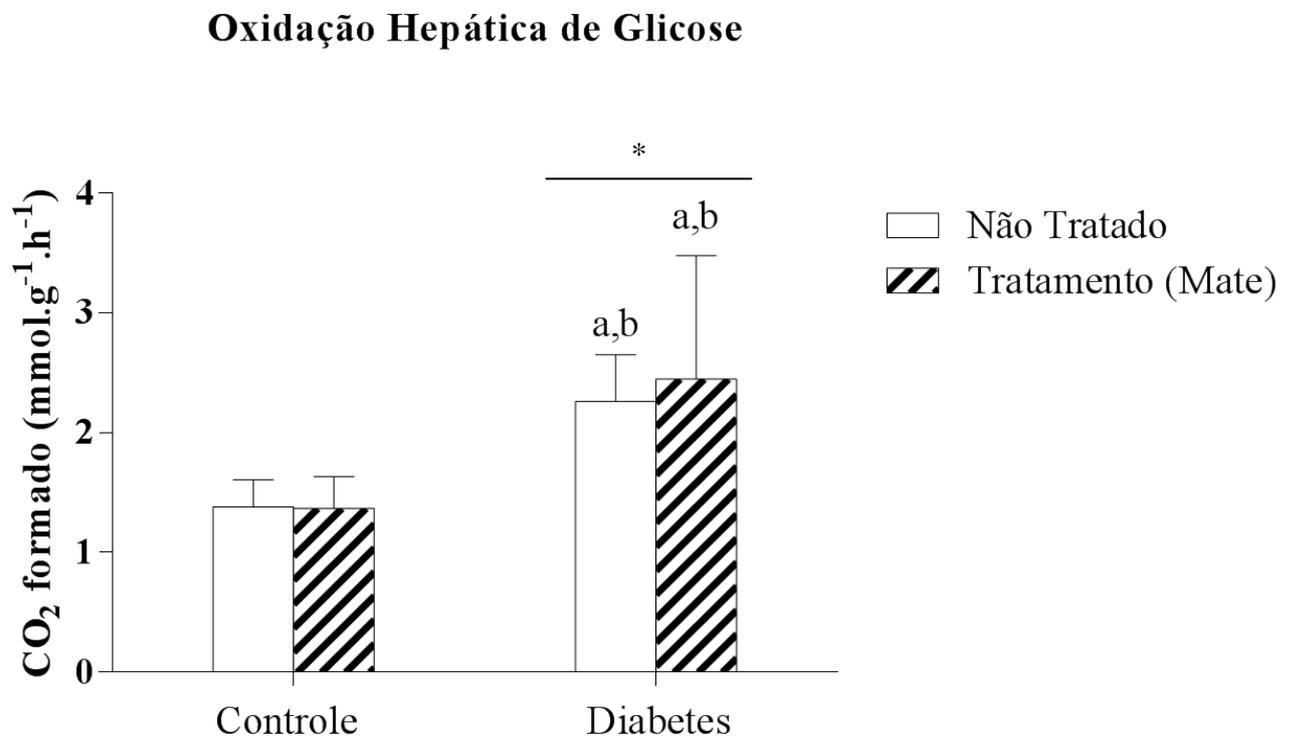


Figura 12. Efeito do tratamento com extrato aquoso de erva-mate sob a produção hepática de CO₂ em ratos submetidos ao modelo de diabetes. Os dados são apresentados como média ± desvio padrão, sendo (a) diferença em relação ao grupo CTR, (b) CTR-Mate. São consideradas significativas as diferenças com $P \leq 0,05$. n=9 por grupo. Variação referente ao modelo experimental (*)

Quanto à taxa de conversão tecidual hepática de glicose em glicogênio (**Figura 13**), os grupos Diabetes e Diabetes-Tratamento apresentaram maiores valores de conversão de glicose em glicogênio tecidual em comparação grupos Controle e Controle-Tratamento, mostrando que houve variação a partir do modelo ($P < 0,0001$), mas não do tratamento ($P = 0,1565$) e da interação ($P = 0,0757$).

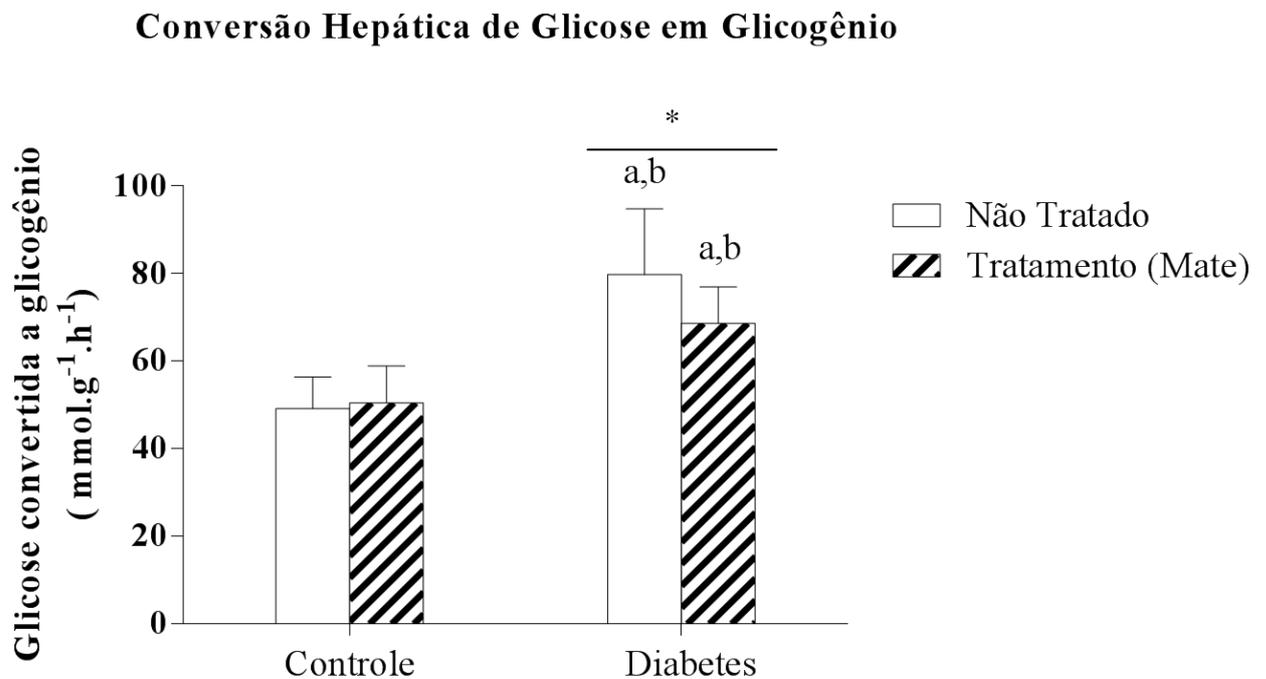


Figura 13. Efeito do tratamento com extrato aquoso de erva-mate sob a conversão hepática de glicose em glicogênio em ratos submetidos ao modelo de diabetes. Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão, sendo (a) diferença em relação ao grupo CTR, (b) CTR-Mate. São consideradas significativas as diferenças com $P \leq 0,05$. $n=9$ por grupo. Variação referente ao modelo experimental (*)

A produção tecidual hepática de lipídios a partir de glicose marcada está destacada na **figura 14**. Os grupos DBT e DBT-Mate apresentaram maiores valores de conversão tecidual de glicose em lipídios em comparação grupos CTR e CTR-Mate, mostrando que houve variação a partir do modelo ($P < 0,0001$) e tratamento ($P = 0,0472$), mas não da interação ($P = 0,1174$). Entretanto não foi observada diferença entre os grupos no teste de comparações múltiplas.

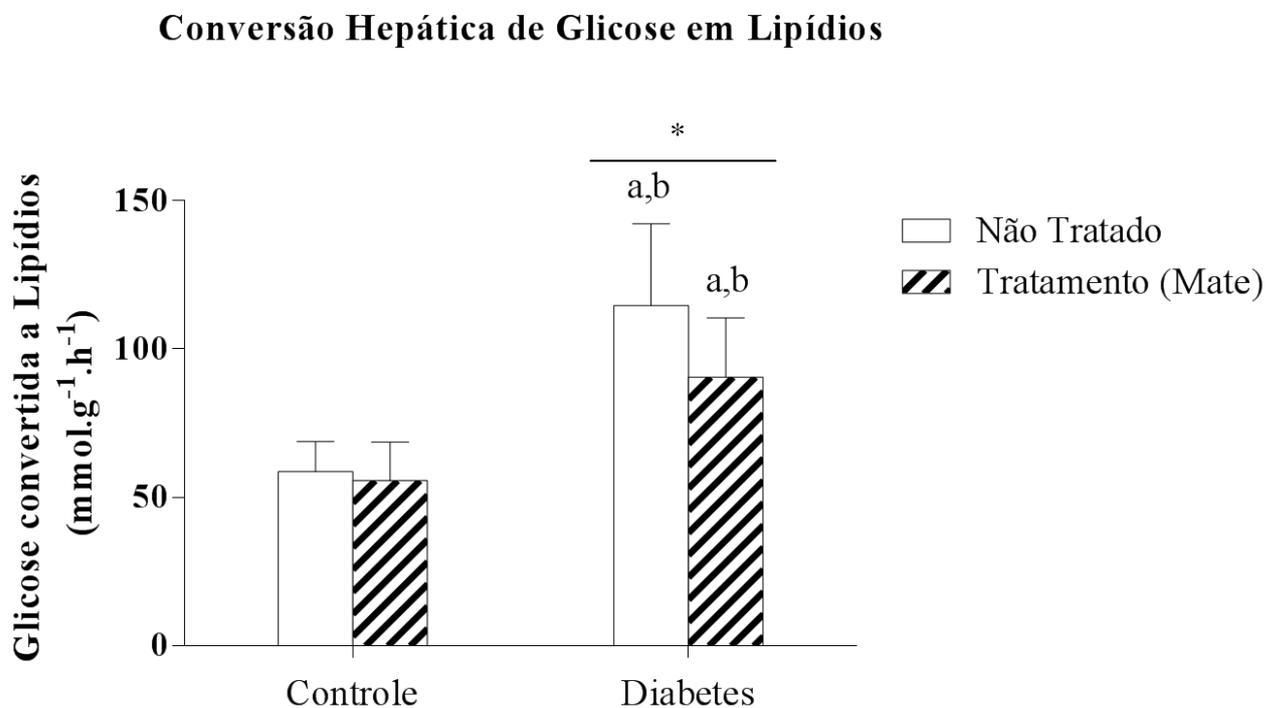


Figura 14. Efeito do tratamento com extrato aquoso de erva-mate sob conversão hepática de glicose em lipídios em ratos submetidos ao ao modelo de diabetes. Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão, sendo (a) diferença em relação ao grupo CTR, (b) CTR-Mate. São consideradas significativas as diferenças com $P \leq 0,05$. $n=8-9$ por grupo. Variação referente ao modelo experimental (*)

A concentração hepática de glicogênio está representada na **figura 15**. Houve diminuição significativa dos níveis de glicogênio no fígado dos grupos DBT e DBT-Mate em relação aos dos grupos CTR e CTR-Mate, mostrando que a fonte de variação das médias foi o modelo de diabetes ($P < 0,0001$), e não o tratamento ($P = 0,1455$) nem a interação ($P = 0,2747$).

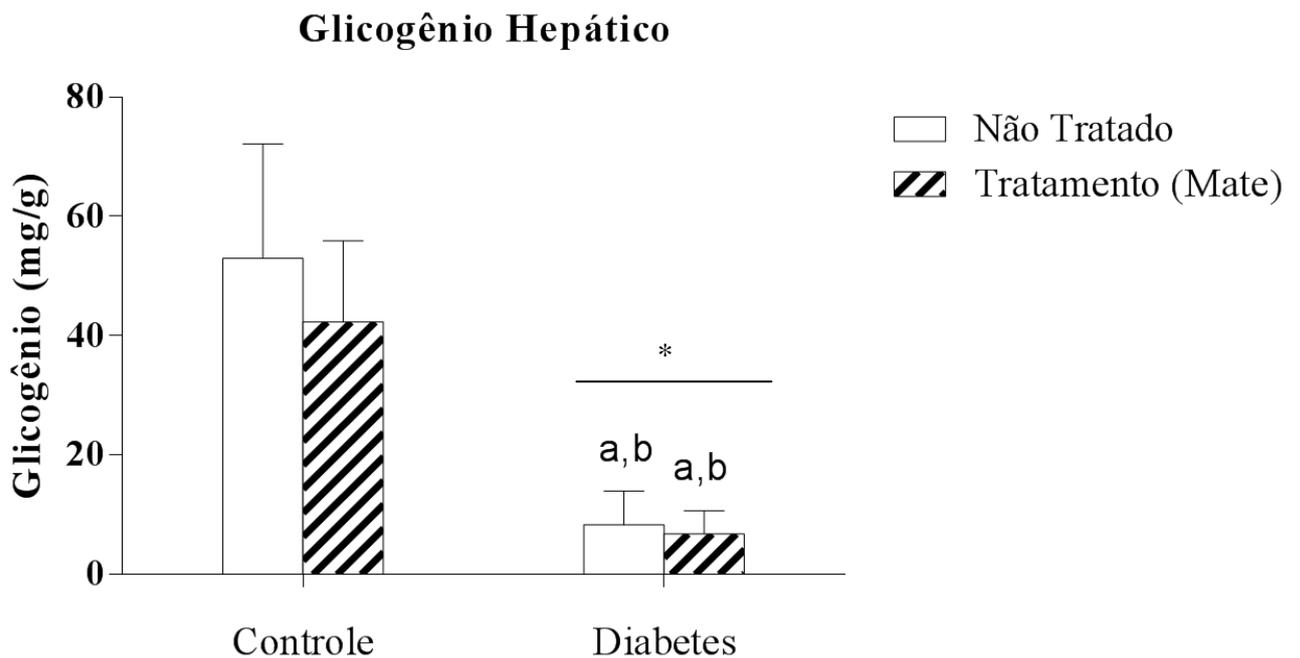


Figura 15. Efeito do tratamento com extrato aquoso de erva-mate sob a concentração hepática de glicogênio em ratos submetidos ao modelo de diabetes. Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão, sendo (a) diferença em relação ao grupo CTR, (b) CTR-Mate. São consideradas significativas as diferenças com $P \leq 0,05$. $n=9$ por grupo. Variação referente ao modelo experimental (*)

4.5. Metabolismo Muscular

Avaliando-se a oxidação muscular de glicose (**Figura 16**), o grupo DBT-Mate apresentou maior valor de oxidação tecidual em comparação demais grupos, sendo que o grupo DBT-Mate apresenta valor igual ao dos grupos controle. Assim, o modelo de diabetes ($P=0,0079$), o tratamento ($P=0,0076$) e a interação entre modelo e tratamento ($P=0,0042$) foram observados como fontes de variação na concentração oxidação tecidual de glicose.

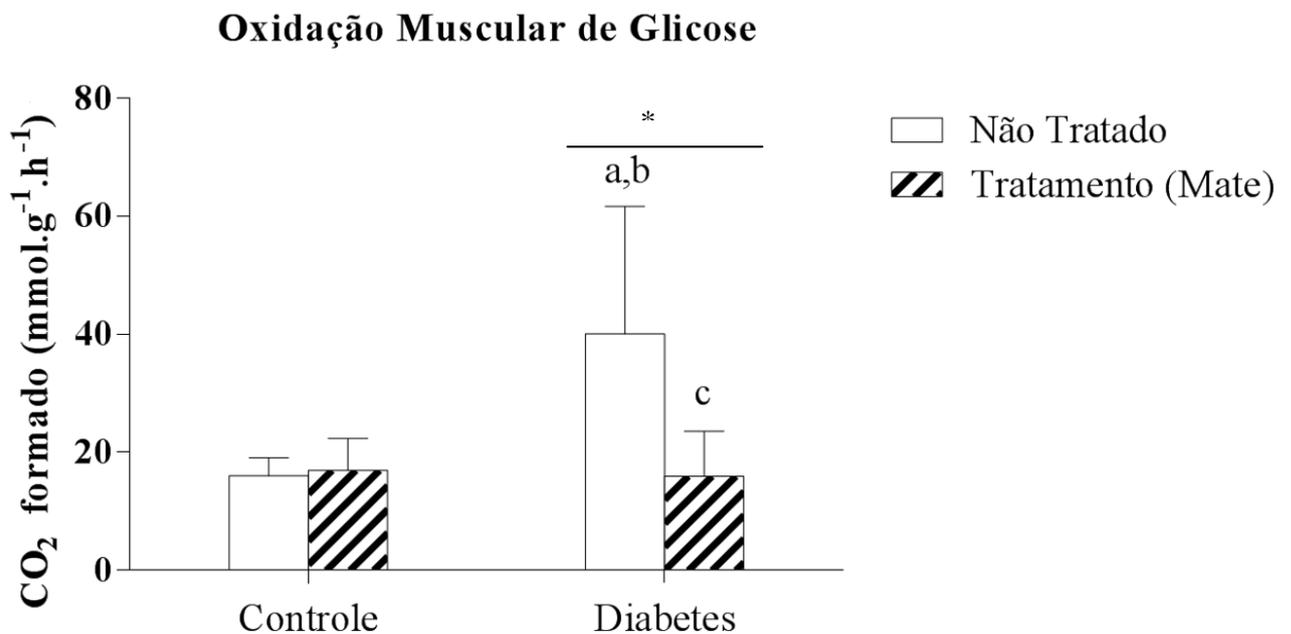


Figura 16. Efeito do tratamento com extrato aquoso de erva-mate sob a oxidação muscular de glicose em ratos submetidos ao modelo de diabetes. Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão, sendo (a) diferença em relação ao grupo CTR, (b) CTR-Mate e (c) DBT. São consideradas significativas as diferenças com $P \leq 0,05$. $n=8-9$ por grupo. Variação referente ao modelo experimental (*)

Quanto à captação muscular de glicose (**Figura 17**), o grupo DBT-Mate apresentou maior valor de captação tecidual de glicose em comparação demais grupos, sendo que o grupo DBT-Mate apresenta valor igual ao dos grupos controle. Isso demonstra que houve variação do modelo de diabetes ($P=0,0052$), o tratamento ($P=0,0174$) e a interação entre modelo e tratamento ($P=0,0096$).

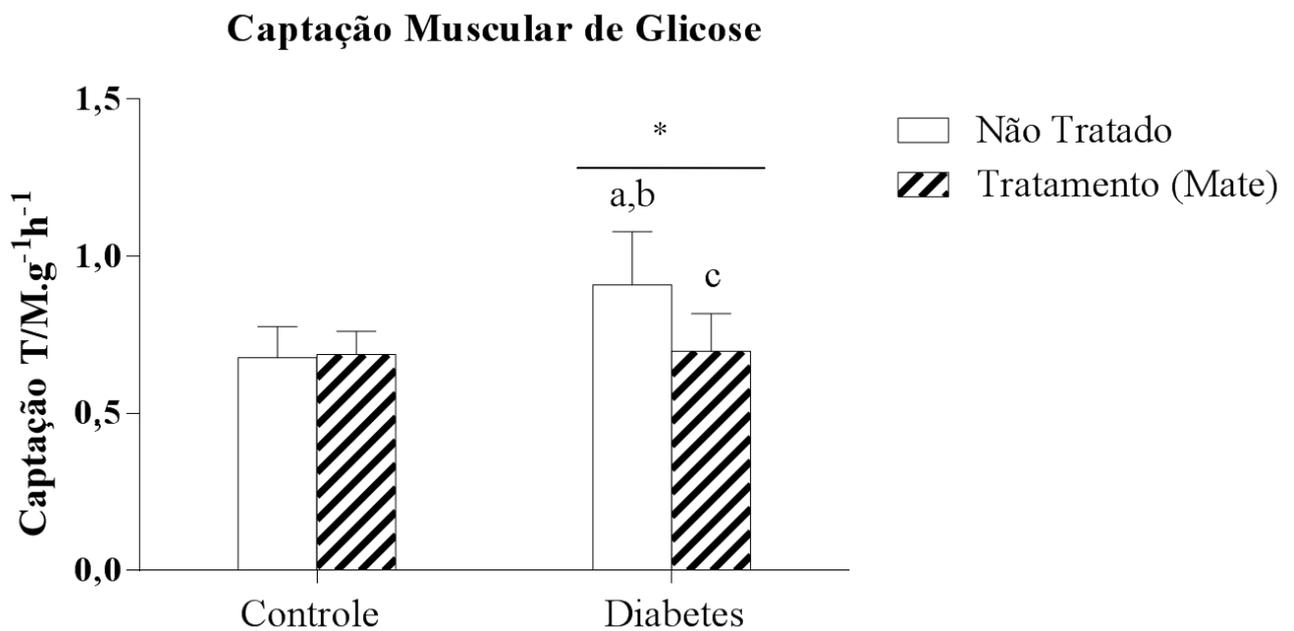


Figura 17. Efeito do tratamento com extrato aquoso de erva-mate sob a captação muscular de glicose em ratos submetidos ao modelo de diabetes. Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão, sendo (a) diferença em relação ao grupo CTR, (b) CTR-Mate e (c) DBT. São consideradas significativas as diferenças com $P \leq 0,05$. $n=9$ por grupo. Variação referente ao modelo experimental (*)

Avaliando-se a conversão muscular de glicose em glicogênio (**Figura 18**), houve variação proveniente do modelo ($P=0,0314$), mas não do tratamento ($P=0,2894$) nem da interação entre modelo e tratamento ($P=0,5014$).

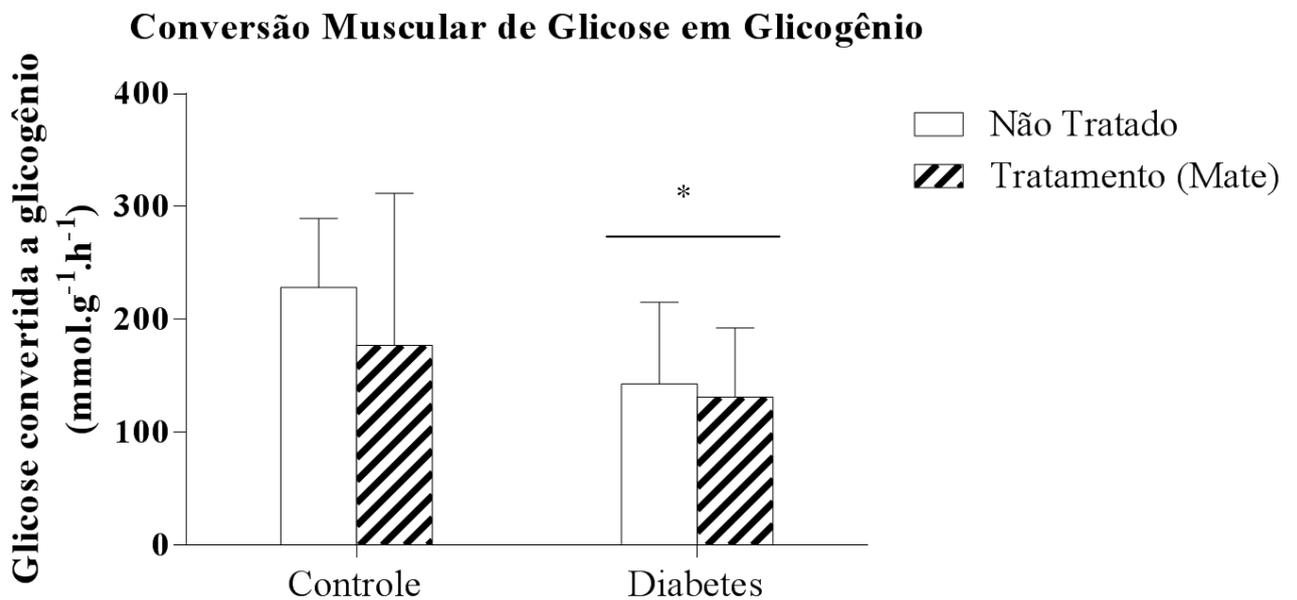


Figura 18. Efeito do tratamento com extrato aquoso de erva-mate sob a conversão muscular de glicose em glicogênio muscular em ratos submetidos ao modelo de diabetes. Os dados são apresentados como média \pm desvio padrão. São consideradas significativas as diferenças com $P \leq 0,05$. $n=9$ por grupo. Variação referente ao modelo experimental (*)

5. DISCUSSÃO

Estudos que avaliam o efeito da erva-mate em modelo de diabetes são poucos, assim este trabalho demonstra sua importância por propor esta abordagem experimental

5.1. Peso corporal

Quando se estabelece o diabetes, dois fatores fundamentais para caracterizar a doença são o ganho de peso e a glicemia. Assim, ao acompanhar esses parâmetros, foi possível observar que ambos foram alterados pela presença do diabetes, sendo que nos animais diabéticos a glicemia foi maior do que 250mg/dl e o ganho de peso, abaixo do esperado para idade dos animais. Estes achados confirmam a efetividade na indução da doença, já que são fortes indicativos do prejuízo metabólico, causado pela deficiência na secreção de insulina presente nesta doença. O prejuízo no ganho de peso é, em maior parte, consequência da intensa depleção dos estoques energéticos de carboidratos, proteínas e lipídios, e em menor parte pela intensa diurese osmótica causada pela hiperglicemia, também característica do diabetes (AL-ACHI; GREENWOOD, 2001).

Analisando o fator tratamento com erva-mate, não foi observada nenhuma diferença no ganho de peso tanto entre os grupos CTR e CTR-Mate e os grupos DBT- e DBT-Mate, o que indica que o chá de *Ilex paraguariensis* não foi capaz de alterar este parâmetro após 30 dias de tratamento. Diversos estudos descrevem a prejuízo no ganho de peso em animais tratados com erva-mate, além de estudos envolvendo voluntários, os quais apresentaram perda de peso corporal como consequência do mesmo tratamento. Entretanto, é importante salientar que estes estudos possuem diferenças metodológicas em relação ao presente trabalho: Gao *et al.* (2013); e Gomes, (2012) utilizaram o modelo de obesidade induzida por dieta hiperlipídica, o qual não foi objetivo deste estudo. Além disso, pesquisas com metodologia semelhante (GOMES *et al.*, 2009) encontraram os mesmos resultados referentes ao ganho de peso descritos em nosso trabalho. Diante disso, é possível supor que a adiposidade aumentada (depósitos de gordura previamente elevados) seja uma condição necessária para que o efeito no ganho de peso seja observado no tratamento com erva-mate.

Estudos envolvendo voluntários (ANDERSEN; FOGH, 2001; DICKEL; RATES; RITTER, 2007) descrevem a perda de peso associada ao tratamento com erva-mate. Entretanto, é importante lembrar que pesquisas envolvendo humanos não apresentam o mesmo controle metodológico em relação a dieta, atividade física e homogeneidade genética,

o que é possível em trabalhos que utilizam animais em condições de laboratório controladas. Assim, é impossível afirmar que não há certo aumento no nível de adiposidade destes voluntários, mesmo que não patológico, uma vez que estes voluntários compõem populações com acesso a dietas ricas em gordura e carboidrato. Também, as diferenças entre humanos, ratos e camundongos não podem ser ignoradas, uma vez que cada espécie possui suas peculiaridades metabólicas.

Em relação ao efeito observado nos estudos envolvendo dieta hiperlipídica, a ação das xantinas presentes na erva-mate pode ser a explicação do desfecho observado, uma vez que possuem atividade lipolítica tanto direta quanto por ação indireta no tecido adiposo. A via direta consiste na inibição da enzima fosfodiesterase, causando aumento nos níveis de AMPc, estimulando a lipase hormônio sensível e, conseqüentemente a lipólise (STEINBERG *et al.*, 1975). A via indireta consiste no aumento na concentração das catecolaminas na circulação sanguínea via estimulação simpática da suprarrenal (YAMADA; NAKAZATO; OHGA, 1989; RACHIMA-MAOZ; PELEG; ROSENTHAL, 1998), levando também à ação lipolítica no tecido adiposo por aumento nos níveis de AMPc intracelulares. Resende *et al.* (2015), em seu trabalho avaliaram a ação das diferentes frações que compõem a erva-mate. A fração rica em metilxantinas foi capaz de melhorar o perfil lipídico, reduzir a lipogênese, aumentar a lipólise no tecido adiposo, além de reduzir a gordura abdominal, o que confirma a ação lipolítica da fração isolada de metilxantinas do mate.

As saponinas, por sua vez, também apresentaram ação lipolítica descrita (RESENDE *et al.*, 2012). Resende *et al.* (2012) estudaram o efeito das frações ricas em saponinas em ratos com dieta padrão ou hiperlipídica. Os resultados aqui descritos assemelham-se a este trabalho pela redução do peso do tecido adiposo retroperitoneal, mesmo diante da manutenção do peso corporal em ratos saudáveis. Além disso, outros parâmetros metabólicos do tecido adiposo também foram influenciados pelo tratamento com mate. Assim, sugere-se que a estrutura anfifílica das saponinas possa acarretar em uma maior facilidade de interação com tecidos que apresentam expressiva adiposidade, o que poderia contribuir para o efeito observado nestes trabalhos.

Estudos que utilizam o extrato bruto de erva-mate também descrevem diversas ações no metabolismo de lipídios, como o bloqueio da diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos maduros em cultivo celular pela redução do acúmulo de lipídios na célula adiposa não madura (GAMBERO; RIBEIRO, 2015). Além disso, o extrato de mate também interfere na atividade de dissacaridases e da lipase pancreática *in vitro* (PEREIRA *et al.*, 2012). Hussein *et al.* (2011) e Martins *et al.* (2010) descreveram a capacidade de aumento de

moléculas sinalizadoras de saciedade na circulação de camundongos com dieta hiperlipídica tratados com mate, além da diminuição no ganho de peso corporal e da ingesta calórica.

Quanto ao efeito do extrato de erva-mate no grupo DBT-Mate em relação ao grupo DBT, não foram observadas diferenças em relação ao ganho de peso. Na ausência do hormônio insulina, o qual tem grande contribuição para a manutenção dos estoques energéticos, ocorre depleção dos estoques de carboidratos, lipídios e proteínas. Ou seja, na falta deste hormônio, predominam vias catabólicas em detrimento das vias anabólicas, levando a intensa utilização dos estoques energéticos pela ação dos hormônios contrarreguladores da insulina (glucagon, catecolaminas, cortisol). Estes hormônios tem por objetivo mobilizar as reservas energéticas levando à glicogenólise, proteólise, lipólise: fatores que contribuem para a perda expressiva de peso corporal (AIRES *et al.*, 2012). Não há descrição de incremento dos estoques energéticos diante do quadro de diabetes pelas propriedades do mate, seja pelas metilxantinas, polifenóis ou saponinas, o que torna seu efeito pouco significativo diante deste quadro de intenso catabolismo e provavelmente contribui para a ausência de efeito do tratamento no diabetes.

5.2. Morfometria

5.2.1. Tecido adiposo

Avaliando-se a índice do tecido adiposo retroperitoneal (TAR), foi possível observar a expressiva diminuição do peso relativo do tecido adiposo retroperitoneal nos animais diabéticos. Diante disso, o fator causal já bem descrito é o incremento das vias de degradação de estoques energéticos, incluindo o tecido adiposo e seu estoque de lipídios na forma de triacilglicerol (ALAIN *et al.*, 1969) por ação do glucagon, o qual sofre intensa lipólise e consequente diminuição de peso relativo deste depósito de gordura. O mesmo padrão foi observado no depósito epididimal de gordura (TAE), concordando com a intensa degradação de estoques de triacilglicerol dos depósitos de gordura corporais.

Quanto ao efeito do tratamento com mate, nos controles foi possível observar a redução do peso relativo do tecido adiposo retroperitoneal, mas não do tecido adiposo epididimal. Lafontan (2008); Berlan, Lafontan e Dang (1980) descrevem as peculiaridades de resposta em diferentes depósitos de gordura de acordo com o número e tipo de receptores para

catecolaminas. Os receptores β -1 e 2 levam à estimulação de vias de degradação, enquanto receptores α -2 inibem a lipólise juntamente com a presença de outros tipos de receptor, como receptores de adenosina, prostaglandina, estradiol e neuropeptídeo. Mauriege *et al.* (1987) estudaram a presença de diferentes tipos de receptor nos tecidos subcutâneo e omental de humanos, e observaram que há maior concentração de receptores do tipo β no tecido adiposo omental enquanto há maior concentração de receptores α no tecido adiposo subcutâneo. Essas peculiaridades têm grande importância diante da mobilização de triacilgliceróis estimulada por catecolaminas ou xantinas. A heterogeneidade na presença desses receptores, portanto explicaria o efeito observado na perda de peso relativo do tecido adiposo retroperitoneal, mas não do epididimal na presença da ação lipolítica das metilxantinas e saponinas do mate.

Um ponto a ser ressaltado é a diferença metodológica para fins de comparação entre o nosso resultado sobre a adiposidade do tecido adiposo retroperitoneal e os demais estudos que relatam a perda de peso dos diferentes depósitos de gordura corporal. Pang, Choi e Park (2008) descreveram a perda de peso do depósito de gordura visceral de ratos diante do tratamento com mate, assim como grande parte dos estudos envolvendo a avaliação do efeito antiobesidade de seus compostos. Porém, estes trabalhos utilizam o modelo de obesidade induzido por dieta hiperlipídica, o que impossibilita afirmar qual tempo de tratamento com mate poderia ser efetivo na redução do depósito de gordura epididimal em animais com dieta padrão (PANG; CHOI; PARK, 2008). Assim, alterações prévias nos padrões de adiposidade decorrentes da dieta hiperlipídica parecem facilitar a observação destes efeitos, porém inviabilizam a avaliação do fator temporal de tratamento em comparação aos trabalhos que utilizam animais que recebem dieta padrão.

Avaliando o mecanismo de ação lipolítica do mate, Resende *et al.* (2012) descreveram a perda de peso do depósito de gordura retroperitoneal de ratos obesos em consequência do tratamento com a fração rica em saponinas do mate em detrimento das demais frações. Mas não observou ação expressiva no tecido adiposo epididimal, o que corrobora os dados aqui demonstrados além de reafirmar a provável ação lipolítica das saponinas do mate. É importante lembrar que a ação conjunta das diferentes frações do extrato de *Ilex paraguariensis* pode não descrever o efeito da ação isolada destas frações. Além disso, as metilxantinas têm ação lipolítica já elucidada. Ou seja, em conjunto, estes elementos podem comportar-se de maneira semelhante ou distinta da observada isoladamente, acarretando em ação sinérgica ou antagônica. Diante disso, não apenas o estudo das porções isoladas, mas também do extrato contendo ambos os elementos podem elucidar essas propriedades anti-obesidade.

Quanto ao efeito do tratamento com erva-mate no grupo DBT-Mate em relação ao grupo DBT não foi observado nenhuma ação proveniente do tratamento. Isso seria explicado pelo quadro característico da fisiopatologia do diabetes, no qual as vias metabólicas de degradação estão em intensa atividade. Diante desta expressiva desregulação, as propriedades da erva-mate teriam pouco ou nenhum efeito, uma vez que, além de não possuírem atividade lipogênica, não teriam ação tão importante para suprir a deficiência na secreção do hormônio insulina. Outra hipótese seria a expressiva redução dos estoques de lipídios provocada pelo diabetes previamente, de modo que não haveria substrato suficiente para a ação da erva-mate. Não são encontrados trabalhos que avaliam em conjunto a perda de peso em animais ou indivíduos diabéticos. Isso ressalta a importância de mais estudos em relação a este aspecto para elucidar a ausência de efeito da erva-mate no peso e adiposidade de animais ou indivíduos diabéticos.

5.2.2. Fígado

Considerando-se o peso relativo do fígado, foi possível observar a influência do diabetes, o qual promoveu o aumento do peso relativo do fígado nos animais dos grupos DBT e DBT-Mate em relação aos dos grupos CTR e CTR-Mate. Este aumento de peso pode estar relacionado a alterações já descritas anteriormente por Das, Padayatti e Paulose, (1996), onde a ação da estreptozotocina promove alterações na histoarquitetura hepática. Segundo o autor, esta alteração pode ser explicada pela deposição de triacilglicerol (esteatose) decorrente de distúrbios primários no metabolismo hepático de lipídios na ausência da insulina (DAS; PADAYATTI; PAULOSE, 1996)

O extrato aquoso de erva-mate, pela sua capacidade de intervenção no metabolismo de lipídios, apresenta potencial benéfico nesse parâmetro. Entretanto, não foram observadas diferenças em relação ao peso relativo do fígado tanto nos controles quanto nos diabéticos. A ausência de efeito nos controles pode ser explicada pela ausência de depósitos de gordura no fígado de animais saudáveis. A ausência de efeito do mate sobre o peso relativo do fígado nos animais diabéticos pode ser explicada pela ineficácia das frações bioativas da erva-mate diante da expressiva desregulação do metabolismo hepático após trinta dias de tratamento e consequente ineficiência na reversão das alterações histológicas e do peso relativo deste órgão.

5.2.3. Músculo

O peso relativo do músculo sóleo também foi avaliado e não apresentou diferenças significativas decorrentes do modelo de diabetes; entretanto, o grupo DBT-Mate apresentou aumento no índice em comparação ao grupo DBT, mas peso relativo igual ao dos grupos CTR e CTR-Mate.

É bem descrita a intensa atividade proteolítica presente na patogênese do diabetes, o que acarreta, a longo prazo, em perda de massa muscular. Em nosso estudo, não foi observada diferença estatística entre os grupos diabetes e controle, o que sugeriria que a atividade proteolítica ainda não teria expressividade com 30 dias de doença. Porém a diferença entre os grupos DBT e DBT-Mate, tendo o grupo DBT-Mate um incremento no índice muscular relativo e igualdade diante dos controles (CTR e CTR-mate), contrapõe a ausência de proteólise sugerida pela observação do grupo DBT isoladamente.

Assim, o tempo de tratamento poderia ser o grande fator de distorção dos resultados, o qual se fosse aumentado, poderia revelar as diferenças de maneira mais esclarecedora. Ainda o aumento de peso muscular relativo nos animais diabéticos tratados com mate sugere ação das moléculas bioativas de *Ilex paraguariensis* neste tecido.

A ação das catecolaminas promove vias catabólicas como a lipólise, porém preserva o tecido muscular da proteólise, concordando com os resultados aqui descritos, os quais revelaram diminuição do índice do tecido adiposo retroperitoneal e preservação do índice muscular (AIRES, 2012). É conhecida a ação da cafeína, presente no mate, como fator melhorador da atividade de contração muscular pelas teorias que pressupõem o efeito direto da cafeína sobre o músculo esquelético. As possibilidades incluem: alteração de íons sódio e potássio, inibição da fosfodiesterase (PDE), regulação metabólica de enzimas semelhantes às fosforilases (PHOS), aumento na mobilização de cálcio do retículo sarcoplasmático e facilitação da contração do músculo esquelético (SPRIET, 1995; SINCLAIR; GEIGER, 2000; DAVIS *et al.*, 2003)

Também tem sido descrito melhoramento da resposta à insulina em modelo de obesidade induzida por dieta, através do aumento nos níveis do receptor de insulina neste tecido em animais resistentes à insulina e tratados com mate (ARÇARI *et al.*, 2011). Todavia, a ação da erva-mate como protetora da degradação do tecido muscular no diabetes, ainda não foi descrita, o que dificulta a confirmação dos dados aqui apresentados e a elucidação do mecanismo envolvido, embora este seja bastante semelhante à ação das catecolaminas no músculo. Se ocorre ação direta dos compostos do mate ou incremento dos níveis circulantes

de catecolaminas, isto ainda deve ser elucidado para que seja sugerido como explicação para este fenômeno. Sabendo disso, é razoável recordar a ação estimulante da cafeína no SNC, que envolve a estimulação do sistema nervoso simpático, aumentando a liberação e, conseqüentemente, a ação das catecolaminas (YAMADA; NAKAZATO; OHGA, 1989; RACHIMA-MAOZ; PELEG; ROSENTHAL, 1998). As catecolaminas atuam no músculo esquelético por receptores β -2, promovendo o incremento da atividade contrátil via modulação das concentrações de íons intracelulares (descrito anteriormente), e a utilização das reservas de glicogênio, pela glicogenólise, diminuindo a atividade proteolítica.

Silva *et al.* (2013) não encontraram alterações no metabolismo de proteínas no músculo proveniente da ação da erva-mate após 60 dias de tratamento. Contudo, o estudo foi efetuado em animais saudáveis, os quais também não apresentaram alteração proveniente do modelo de diabetes do presente trabalho. Sugere-se então que a ação sobre o metabolismo protéico possa ser observada de maneira expressiva na presença do diabetes. Isso ocorre provavelmente por um papel de destaque da ação das catecolaminas e/ou metilxantinas durante o tratamento perante a ausência da insulina, conseqüentemente impedindo a proteólise, glicogenólise e lipólise musculares.

Conclui-se então que o estudo da ação muscular dos compostos da erva-mate ainda deve ser incrementado em especial pelo estudo específico da fração de metilxantinas, com destaque para cafeína, mas também pela análise do metabolismo protéico na presença do diabetes e do tratamento com mate para elucidar, por fim, o mecanismo atuante nesse fenômeno aqui descrito.

5.3. Parâmetros Séricos

Como descrito na literatura, o modelo de indução de diabetes por injeção de STZ leva a rápida morte das células β -pancreáticas, o que acarreta na deficiência na secreção de insulina e gera o modelo de diabetes insulino-dependente: deficiência primária na secreção de insulina (KRONENBERG, 2008). Os resultados aqui descritos apresentaram como fonte de variação o modelo de diabetes os seguintes parâmetros: Níveis de glicose, insulina, perfil lipídico, uréia, creatinina, transaminases hepáticas e proteínas totais. Esses fatores em conjunto indicam a evolução e o grau de desregulação metabólica gerado pela doença.

5.3.1. Níveis de glicose e insulina

Em se tratando da glicemia e da insulinemia, podemos avaliar a efetividade na indução do diabetes. Ambos os parâmetros se encontraram alterados nos animais submetidos à intervenção (STZ), onde a glicemia se apresentou elevada e a insulinemia diminuída, conforme já descrito pela literatura (ALAIN *et al.*, 1969). Esses resultados validam a indução de morte das células β -pancreáticas diante da ação da STZ, pois através desse mecanismo, a secreção de insulina torna-se diminuída e a patogênese inicia-se, levando rapidamente a níveis aumentados de glicemia (hiperglicemia). Diante disso, podemos afirmar que houve efetividade na indução da doença para que, a partir de então, pudéssemos de fato verificar o efeito do tratamento com mate em animais com a doença devidamente instalada.

Examinando-se o tratamento com erva-mate, os níveis de glicose e insulina não foram alterados no grupo CTR-Mate em comparação ao grupo CTR. Para elucidar este desfecho, é válido lembrar a importância da presença da insulina na regulação fina da concentração sérica de glicose. Este hormônio, quando presente, tem predominância diante dos efeitos catabólicos. Ou seja, sua ação predominantemente anabólica torna-se prevalente mesmo na presença dos compostos do mate, o que torna improvável a modificação dos níveis glicêmicos e insulinêmicos quando estes se encontram ajustados.

O grupo DBT-Mate apresentou menores valores de glicemia diante do grupo DBT, mas ainda considerados alterados (diferentes dos grupos CTR e CTR-Mate), porém níveis iguais de insulina. Isso pode ser explicado pela ação das frações de *Ilex paraguariensis* sobre o metabolismo de carboidratos. O mesmo efeito foi observado por outros trabalhos (HUSSEIN *et al.*, 2011) em modelos de síndrome metabólica induzida por dieta hiperlipídica, o que reafirma o efeito benéfico do mate nos níveis glicêmicos aqui observados. Hussein *et al.* (2011) relataram inclusive a melhora nos índices de resistência a insulina, o que sugere uma otimização da resposta das células β -pancreáticas ao aumento na glicemia. Contudo, este achado se refere a modelos de síndrome metabólica induzida por dieta, onde o mecanismo fisiopatológico consiste primariamente na diminuição da responsividade das células β -pancreáticas e na ação do hormônio por elas secretado nos tecidos insulino-dependentes levando ao fenótipo semelhante ao diabetes tipo 2. Este ponto difere da metodologia empregada em nosso trabalho, a qual apresenta o fenótipo semelhante ao diabetes tipo 1, onde as células β -pancreáticas são destruídas pela ação da STZ levando à deficiência primária na secreção de insulina. Portanto, cabe lembrar que a melhora da responsividade ao aumento

glicêmico depende da presença das células β -pancreáticas ou da restauração das mesmas, e provavelmente por esta razão o efeito do mate não foi efetivo nos níveis de insulina sanguíneos em nosso trabalho.

Resende *et al.* (2012) avaliaram o efeito *in vitro* do tratamento com mate, e descreveram a inibição de dissacaridases presentes normalmente na borda em escova intestinal após tratamento agudo, o que provavelmente auxilia em uma diminuição do pico glicêmico no período pós-prandial e ajuda no controle glicêmico. No modelo de diabetes induzida por aloxano, um análogo tóxico da glicose assim como a STZ, Oliveira *et al.* (2008) observaram uma diminuição da expressão do transportador intestinal de glicose diante do tratamento com erva-mate. Isso acarretaria o efeito sinérgico ao descrito pelo trabalho de Resende *et al.* (2012), levando a atenuação do pico glicêmico pós-prandial e melhorando o controle dos níveis de glicose sanguíneos. Ainda, Arçari *et al.* (2013) observaram uma diminuição dos níveis de mRNA da enzima fosfoenolpiruvato carboxicinase (PEPCK), enzima chave na via gliconeogênica expressivamente ativada no diabetes, além de interferir na via de sinalização da via PI3K-AKT (via de resposta à insulina) levando ao retorno para os níveis basais destes mRNAs. Estas vias têm grande importância na produção de glicose em períodos de jejum, porém no diabetes, graças à falta da ação da insulina, encontram-se incrementadas mesmo diante da hiperglicemia. A consequência desta desregulação leva ao aumento nos níveis de glicose sanguínea a partir da produção de glicose pela gliconeogênese hepática, acarretando na manutenção da hiperglicemia. Arçari *et al.* (2011) inclusive relataram a restauração dos níveis basais de sensibilidade à insulina hepáticos de ratos obesos após o tratamento com mate. A interferência do tratamento com mate diante da expressão gênica da PEPCK e das enzimas envolvidas na sinalização da insulina no fígado são, portanto de grande importância no controle dos níveis glicêmicos no diabetes.

Um mecanismo sugerido, além da atuação nas etapas digestivas do metabolismo de carboidratos, é que esse efeito pode ser atribuído aos compostos fenólicos presentes na erva-mate. Os mecanismos desses compostos no metabolismo da glicose não estão completamente elucidados. Porém, alguns derivados sintéticos do ácido clorogênico inibem a glicose-6-fosfatase *in vitro* e *in vivo* após administração intravenosa ou intraperitoneal, causando uma redução dos picos glicêmicos (OLIVEIRA *et al.*, 2008). Contudo Resende *et al.* (2015) observaram melhora nos níveis glicêmicos de ratos com dieta hiperlipídica diante de diferentes frações do extrato de erva-mate, sendo que ambos os extratos, rico em polifenóis e metilxantinas e rico em saponinas, levaram ao mesmo desfecho. Por isso, mais estudos são

necessários para elucidar o real mecanismo envolvido no efeito hipoglicemiante do mate em relação ao diabetes melito.

5.3.2. Perfil Lipídico

Avaliando-se os parâmetros plasmáticos, observamos que os fatores triglicerídeos, colesterol, HDL-colesterol e VLDL apresentaram variação referente ao modelo de diabetes; entretanto, o LDL não apresentou alteração relativa ao modelo. A alteração do perfil lipídico devido ao diabetes já é bem descrita em humanos e em modelos animais (MATHÉ, 1995), onde ocorre aumento das frações LDL, VLDL, triglicerídeos e colesterol total e diminuição de HDL-c. Assim sendo, foi possível observar alterações no perfil lipídico após a intervenção (STZ) como consequência do metabolismo alterado de lipídios na ausência da ação da insulina em especial no fígado. Isso porque a derregulação deste órgão produz aumento a concentração sérica de triglicerídeos, colesterol, LDL (lipoproteína responsável pela distribuição de lipídios aos tecidos) e VLDL e diminui a produção de HDL-colesterol (lipoproteína responsável pelo transporte reverso de lipídios ao fígado). O tecido adiposo também contribui para o aumento da concentração sérica de ácidos graxos diante a atividade lipolítica intensa na qual se encontra na ausência da insulina. O aumento das frações de LDL, VLDL, triglicerídeos e colesterol sanguíneas estão diretamente associados ao risco de doença aterosclerótica e o aumento de HDL-c, associado à diminuição deste risco (GRANGER *et al.*, 1993). Contudo, em nosso trabalho, não observamos alterações nos níveis de LDL referente ao modelo, o que pode ser devido à heterogeneidade dos valores obtidos ou devido ao tempo de observação da doença, uma vez que esta alteração já está bem descrita (LEE *et al.*, 1992; LOGANATHAN *et al.*, 1992.; KLIP *et al.*, 1992; BARON *et al.*, 1976).

O efeito do tratamento com erva-mate em ratos controle não foi observado. Contudo existe um aspecto preventivo a ser elucidado. Martins *et al.* (2010) concluíram que o mate, atua na inibição da atividade *in vitro* da lipase pancreática humana e porcina, o que pode dificultar a absorção intestinal de lipídios. Klein *et al.* (2011) descreveram uma diminuição do consumo de ácidos graxos e colesterol de indivíduos pré-diabéticos, indicando aumento na saciedade desses indivíduos em relação ao grupo sem tratamento. Dickel, Rates e Ritter (2007) relataram a efetividade do consumo do mate como fator de controle de hiperlipidêmicas. Em conjunto, esses fatores indicam que mesmo na ausência da desregulação

metabólica estabelecida, o consumo de mate pode exercer papel preventivo na ingestão e absorção de lipídios, diminuindo o risco de desenvolvimento de diabetes melito tipo 2.

Em se tratando do efeito do consumo de erva-mate pelos ratos diabéticos, não foram observadas diferenças nos triglicerídeos, colesterol total, HDL-c, LDL nem VLDL. Entretanto o grupo DBT-mate apresentou valores menores de HDL-c em relação aos controles. Contudo, a literatura descreve resultados benéficos do consumo de mate, onde há aumento da fração de HDL-c e diminuição dos demais determinantes do perfil lipídico (KLEIN *et al.*, 2011 HUSSEIN *et al.*, 2011). Kang *et al.* (2012) relataram uma redução do colesterol, triglicerídeos, glicose no soro de camundongos alimentados com dieta rica em gordura. Gao *et al.* (2013) utilizando ratos Sprague-Dawley com dieta hiperlipídica mostraram que o mate reduziu o peso corporal total, diminuiu níveis plasmáticos de colesterol, triglicerídeos e LDL e aumentou os níveis de HDL-c. Menini *et al.* (2007) observaram a preservação de paraxonase 1, uma enzima antioxidante carregada por HDL-c, e atuação sobre a preservação da estrutura da apolipoproteína A1 (apoA-I), também relativa à estrutura da lipoproteína HDL-c. Por fim, Balzan *et al.* (2013) descreveram uma diminuição dos índices aterogênicos juntamente à redução dos níveis plasmáticos de colesterol e lipídios. Assim, é importante lembrar que os achados destes autores se referem a efeitos em animais com desregulação do metabolismo lipídico induzida por dieta, o que não foi o objeto do presente estudo. Entretanto, Gomes *et al.* (2009) relataram aumento nos níveis de triglicerídeos plasmáticos de ratos diabéticos insulino dependentes, assim como aqueles utilizados em nosso estudo, após tratamento com erva-mate. Essas discrepâncias podem ser relativas a diferenças metodológicas tanto pela presença da dieta hiperlipídica, quanto pelo tempo de tratamento, o que sugere a necessidade de mais estudos para efetiva elucidação dos mecanismos envolvidos nesses fenômenos.

Dentre os mecanismos sugeridos para este efeito benéfico, Hussein *et al.* (2011) relataram a efeitos anorexígenos induzindo saciedade pela estimulação de peptídeo semelhante ao glucagon (GLP-1) e leptina, compostos envolvidos com comportamento de saciedade e diminuição de ingesta alimentar após tratamento com as frações de polifenóis e saponinas do mate. Resende *et al.* (2015), utilizando o tratamento com diferentes frações de mate, atribuíram às metilxantinas o melhoramento no perfil lipídico, porém ambas as frações foram capazes de reduzir a produção lipogênese hepática, o que adverte que não pode ser descartado o efeito do mate através do melhoramento do processamento hepático de lipídios, que será abordado em outro segmento.

5.3.3. Ureia e Creatinina

Avaliando-se os níveis de ureia e creatinina plasmáticos foi possível ter uma ideia do metabolismo proteico, função renal, entre outros parâmetros que, em conjunto, podem indicar a efetividade do tratamento com erva-mate em ratos diabéticos.

Em se tratando do efeito da indução do diabetes por injeção de STZ, os ratos apresentaram valores aumentados de uréia e diminuídos de creatinina. Os níveis de uréia sanguíneos estão diretamente relacionados ao produto do catabolismo protéico, principalmente hepático, e ao dano renal decorrente das complicações do diabetes (SHRESTHA *et al.*, 2008). Assim sendo os níveis aumentados encontrados nos ratos diabéticos representam possivelmente a intensa atividade de catabolismo proteico característica do diabetes e provável dano renal, o qual dificultaria a eliminação deste composto através da urina. Os níveis de creatinina são utilizados na clínica para avaliação de função renal, contudo, neste trabalho, isso foi dificultado pela intensa perda de massa muscular presente nos diabéticos, a qual interfere expressivamente na avaliação da função renal por este parâmetro. A creatinina é um produto do metabolismo muscular e, em indivíduos normais, mantêm-se em concentrações constantes no sangue; entretanto, quando há perda de massa muscular, os níveis desse composto decrescem, assim como descrito nos resultados deste trabalho. Portanto, é possível presumir que a diminuição dos níveis do hormônio insulina tenha acarretado uma proteólise muscular intensa e conseqüentemente na perda de massa muscular, além de, por mecanismos secundários, causar dano renal, que é uma complicação característica do diabetes. (THOMSON; VALLON; BLANTZ, 2004; PARVING *et al.*, 1983)

Assim como em outros estudos (RESENDE *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2013), os valores de ureia e creatinina não sofreram interferência em ratos controle tratados com erva-mate em relação a ratos controle que receberam água. Não há descrita nenhuma ação nos níveis de ureia ou creatinina pelo efeito do mate, o que corrobora os valores semelhantes encontrados entre os grupos CTR e CTR-Mate neste trabalho.

Em relação ao efeito do tratamento com mate em ratos diabéticos, foi observada a diminuição dos níveis de uréia e aumento de creatinina plasmáticos. Silva *et al.* (2013) não encontraram alterações na síntese proteica muscular, contudo o experimento foi realizado com ratos saudáveis, e não diabéticos. O aumento de peso muscular observado nos parâmetros morfométricos é indicativo de recuperação da massa muscular e pode estar associado ao

aumento nos níveis de creatinina circulantes, porém não pode ser considerado conclusivo. Diante disso, é concebível afirmar que seria importante o estudo de vias de síntese e degradação proteica em ratos diabéticos submetidos ao tratamento com mate tanto no fígado quanto no músculo, os quais auxiliariam na investigação desse melhoramento nas concentrações de creatinina e ureia sanguínea frente ao tratamento com mate.

5.3.4. Transaminases hepáticas

A avaliação da atividade das transaminases alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase (ALT e AST) é de uso clínico conhecido para verificação da função hepática, de modo que seus valores aumentados sugerem a verificação de dano hepático por disfunção do próprio órgão ou disfunção pela presença de agente biológico ou químico. Em nosso trabalho, os níveis dessas transaminases podem apenas indicar dano por agente químico, uma vez que não estão presentes agentes biológicos causadores de lesão hepática.

A indução do modelo de diabetes foi realizada por injeção única de STZ (65mg/kg, i.p.) e, após 30 dias, os ratos não apresentaram alterações nas transaminases hepáticas referentes ao modelo. Este resultado está de acordo com informações já descritas acerca da farmacocinética desta substância, onde a toxicidade seletiva da STZ ocorre em tecidos que expressam GLUT-2. Ou seja, as células hepáticas também são acometidas por esta droga (JOO *et al.*, 2010) por apresentarem o mesmo transportador de glicose que as células β -pancreáticas (ELEAZU *et al.*, 2013). Assim, perante a injeção de STZ ocorre dano agudo ao fígado. Entretanto, os experimentos aqui descritos avaliaram a concentração sérica de transaminases 30 dias após a injeção de STZ, que representa tempo suficiente para resolução do dano hepático por mecanismos de reparação intrínsecos ao órgão. Além disso, já é bem conhecido o efeito danoso do diabetes ao metabolismo hepático, isso porque dentre outros eventos patológicos adjacentes está a desregulação do metabolismo lipídico e acúmulo de lipídios no fígado na forma de triacilglicerol (esteatose), o que não pode ser observado pela medida dos níveis de ALT e AST sanguíneos. Isso se deve provavelmente ao tempo de acompanhamento, que possivelmente não foi suficiente para observar dano hepático pela disfunção intrínseca à patogênese do diabetes. Outro ponto é a observação feita por Vozarova *et al.*, (2002), que sugerem o aumento específico de ALT, mas não de AST, como indicador de ineficiência hepática na resposta à insulina, quadro característico do diabetes que pode ser visualizado em nossos resultados.

Diante do efeito do tratamento com erva-mate, o grupo CTR-Mate não apresentou diferenças relativas ao grupo CTR. Todavia, o grupo DBT-Mate apresentou aumento dos níveis de ALT/TGP em relação ao grupo CTR. Pittler, Schmidt e Ernst (2005) descreveram a segurança no uso da erva-mate em animais de laboratório por não apresentar toxicidade intrínseca às frações do mate, mesmo que estes compostos sejam metabolizados pelos hepatócitos (BARNES *et al.*, 2010). Aparentemente, a presença dos fatores diabetes e erva-mate acarretam em sobrecarga hepática após 30 dias de tratamento, mesmo que a erva-mate apresente benefícios ao fígado de ratos obesos após sete semanas de tratamento, através de sua propriedade de reduzir os níveis de esteatose hepática (HUSSEIN *et al.*, 2011). Esse tempo foi maior do que o utilizado no presente trabalho, assim sendo, o tempo de tratamento pode ser um grande fator de influência na reversão do provável dano hepático causado pela ação combinada da esteatose hepática e da metabolização dos compostos do mate.

5.3.5. Proteínas Totais

Os níveis de proteínas sanguíneas totais são fortemente influenciados pelo estado nutricional do indivíduo, sendo que na presença de desnutrição, esses níveis estão diminuídos. No modelo de diabetes (STZ), assim como no diabetes humano não tratado, a expressiva atividade catabólica observada acarreta desnutrição. Os resultados deste trabalho exibem exatamente este estado de desnutrição pela diminuição dos valores de proteínas sanguíneas totais graças ao modelo (STZ), uma vez que juntamente com este parâmetro, a morfologia dos tecidos, como o peso muscular, por exemplo, também se apresentou alterada pela intervenção assim como trabalhos que descrevem a ação diabetogênica da estreptozotocina (AL-ACHI E GREENWOOD, 2001).

Em se tratando do efeito do tratamento com erva-mate, o mesmo não foi efetivo em alterar esses níveis, o que já foi mostrado por Silva *et al.* (2013) onde os níveis de proteínas totais não se alteraram em ratos saudáveis tratados com extrato comercial e bruto de erva-mate. Os animais acometidos pela doença apresentaram valores distintos do grupo CTR-Mate, contudo isso não apresenta relevância biológica, uma vez que os valores de proteínas totais ainda permanecem abaixo dos valores de normalidade (KOHN E CLIFFORD, 2002). Isso demonstra que a erva-mate, portanto não foi efetiva em reverter o quadro de desnutrição causada pela deficiência na secreção de insulina

5.4. Metabolismo Hepático

Visando a avaliação da condição metabólica do fígado nos ratos diabéticos submetidos ao tratamento com mate, diversos parâmetros foram avaliados: o metabolismo de carboidratos foi avaliado através da verificação da conversão de glicose marcada em CO₂ e glicogênio, além da determinação da concentração de glicogênio hepático. A constituição de compostos lipídicos foi avaliada pela conversão de glicose marcada em lipídios e pela medida de colesterol e triglicerídeos no tecido hepático.

A medida de oxidação (formação de CO₂) e a conversão de glicose em glicogênio, além dos níveis de glicogênio, apresentaram-se com variação expressiva referente ao modelo de diabetes, sendo que os dois primeiros parâmetros se apresentaram aumentados e o terceiro, diminuído. Como já descrito na literatura, graças à ação predominante do glucagon, o estado metabólico predominante no indivíduo diabético é representado por catabolismo intenso devido à falta da ação da insulina; ou seja, degradação de diversas reservas energéticas (MITRAKOU *et al.*, 1992; HERZIG *et al.*, 2001). O aumento nos níveis de oxidação e conversão de glicose em glicogênio pode ser entendido como uma compensação ao estado de catabolismo expressivo ou início da diminuição da sensibilidade hepática à insulina. Contudo, os níveis glicogênio diminuídos demonstram que, mesmo diante disso, não houve atenuação do desgaste dos estoques energéticos. Além do mais, a captação hepática da glicose circulante via GLUT-2 é independente da ação da insulina e diretamente proporcional às concentrações glicêmicas, o que pontualmente pode aumentar a utilização de glicose em se tratando de uma observação da produção de glicogênio. Porém, é importante lembrar a importância da ação da insulina nas vias energéticas hepáticas, a qual age sobre a atividade das enzimas envolvidas impedindo a gliconeogênese e estimulando a síntese de estoques energéticos. Assim, para efetiva verificação deste fenômeno, mais estudos são necessários, além da verificação de mais vias de síntese e degradação energética, como a avaliação da expressão e atividade das enzimas glicogênio sintase e glicogênio fosforilase, por exemplo, a fim de que possa ser verificada a resultante entre as vias de síntese e degradação.

Diante do tratamento, a oxidação de glicose e sua conversão em glicogênio, bem como a concentração de glicogênio tecidual, não foram modificadas. Resende *et al.* (2010) relataram a diminuição da oxidação de glicose no tecido hepático de ratos saudáveis submetidos ao tratamento com erva-mate nas diferentes frações do mate, sendo que esse efeito se demonstrou em ambas as frações, porém maior na porção rica em saponinas.

Todavia, em nosso experimento, não foi possível observar esta diminuição tanto em controles quanto em diabéticos, mesmo que o tempo de tratamento tenha sido semelhante (30 dias). As variações genéticas da linhagem utilizada, ou ação individual distinta da ação do extrato total do mate podem explicar tal fato. Este ponto é descrito pelo próprio autor ao relatar que os dados obtidos em seu trabalho indicam que o extrato bruto pode ter inclusive ação antagônica a dos compostos em separado (RESENDE *et al.*, 2013).

O metabolismo hepático de lipídios foi avaliado pela medida da capacidade de conversão de glicose marcada em lipídios e as concentrações teciduais de triglicerídeos e colesterol. Os ratos submetidos à indução do modelo (STZ) apresentaram níveis aumentados de produção de lipídios a partir de glicose, inalterados de triglicerídeos teciduais e diminuídos de colesterol tecidual. Assim como ocorreu na síntese de glicogênio, o incremento dos níveis de substrato da via (glicose), graças à hiperglicemia, acarretou aumento da utilização de glicose para vias de síntese, mesmo que concomitantemente estejam aumentadas as vias de degradação pela ação do glucagon. Ou seja, a glicose intracelular acarretaria no acúmulo intracelular de Acetil-CoA, o qual seria destinado para vias de síntese de lipídios a partir de glicose. O aumento desta via está diretamente relacionado à síntese de triacilglicerol, o qual tende a se acumular no fígado do indivíduo diabético, fato que não ocorreu neste experimento. Todavia, isso pode ser explicado pelo tempo de observação não ter sido suficiente para observar este desfecho já descrito por outros autores, mesmo que mais frequentemente observado no diabetes tipo 2 (EL-KADER, 2015). Os níveis de colesterol hepático por sua vez, apresentaram-se diminuídos nos diabéticos, o que inicialmente parece contraditório, ao passo que os níveis sanguíneos de colesterol estão aumentados. Contudo a síntese do colesterol hepático pode ser regulada por diversos fatores que estão alterados no diabetes. Primeiro, os níveis circulantes de colesterol podem realizar retroalimentação negativa na ação da enzima HMG-CoA redutase, a qual tem grande relevância na síntese do colesterol. Quer dizer, os níveis aumentados de colesterol inibem a síntese do colesterol hepático na tentativa de diminuir os níveis sanguíneos novamente, o que não tem grandes efeitos tendo em vista toda a desregulação concomitante no metabolismo de lipídios. Segundo, o glucagon exerce efeitos inibitórios sobre a mesma enzima e a insulina tem efeito contrário; assim sendo, na ausência da insulina, HMG-CoA redutase encontra-se com baixa ação e conseqüentemente, podem ser observados baixos níveis de produção hepática de colesterol (NESS; CHAMBERS, 2000; NESS; ZHA; WIGGINS, 1994). Esses efeitos, contudo, seriam melhor elucidados mediante maior número de pesquisas com foco no metabolismo hepático, pois há uma

variação significativa nos artigos que abordam este tema (NESS; CHAMBERS, 2000; NESS; ZHA; WIGGINS, 1994; EL-KADER, 2015; RESENDE *et al.*, 2013).

Quanto ao tratamento com erva-mate, tanto a conversão de glicose em lipídios quanto a concentração de triglicerídeos tecidual não apresentaram diferença estatística. Porém, os níveis de colesterol hepático aumentaram e retornaram aos valores encontrados nos controles. Há grande influência hormonal na ação da enzima HMG-CoA redutase hepática: no estado diabético, a ausência da insulina acarreta em uma menor atividade dessa enzima. Porém a administração do mate foi efetiva em elevar novamente a síntese de colesterol hepática, via altamente dependente a atividade da HMG-CoA redutase (NESS; ZHA; WIGGINS, 1994). Sabendo da ação das frações do mate, as metilxantinas são candidatas a responsáveis pelo efeito encontrado, isso porque a ação das metilxantinas acarreta na liberação de catecolaminas, como descrito anteriormente (YAMADA; NAKAZATO; OHGA, 1989), e diante disso também há descrição da influencia das catecolaminas em ratos normais sobre a síntese do colesterol através da estimulação da HMG-CoA redutase (RODWELL *et al.*, 1976). Esta teoria explicaria o aumento encontrado nos ratos diabéticos tratados com mate, uma vez que as metilxantinas do mate poderiam aumentar as catecolaminas circulantes, e estas, por sua vez, estimular a via de síntese do colesterol hepático. Aparentemente, não há ação benéfica deste efeito, uma vez que indivíduos com dislipidemias não necessitam de maior síntese de colesterol, que está aumentado na corrente sanguínea, mas a capacidade de modulação das metilxantinas nas vias de síntese do colesterol ainda deve ser estudada para confirmação dos resultados aqui descritos.

5.5. Metabolismo Muscular

O metabolismo muscular foi avaliado através da capacidade de captação de glicose e sua habilidade de convertê-la em CO₂ e glicogênio. Assim sendo, o tecido muscular dos animais submetidos à intervenção (STZ) apresentou maior capacidade de captação e oxidação de glicose a CO₂. Como já relatado na literatura indivíduos diabéticos possuem diminuição da capacidade de captação de glicose, pela resistência à insulina tanto no diabetes tipo 2 quanto 1 (em longo prazo), além da diminuição na atividade da via glicolítica, a qual normalmente acompanha os níveis de oxidação e produção de CO₂ (NELSON; COX, 2014). Conforme observado em nossos resultados, os efeitos foram aparentemente contraditórios.

Quanto à capacidade de captação e oxidação muscular de glicose, é de conhecimento a necessidade da presença da insulina para aumentar o transporte de glicose, via GLUT-4. Porém, a presença de GLUT-1 garante a captação basal de glicose independentemente da ação da insulina. Alguns trabalhos abordam a diminuição da expressão de GLUT-4, mas não de GLUT-1, muscular durante a patogênese do diabetes (KAINULAINEN *et al.*, 1994) após 12-16 semanas de diabetes, enquanto outros relatam a manutenção dos níveis de expressão de GLUT-4 e 1 após 7-14 dias (KAHN *et al.*, 2016). Portanto, as mudanças na capacidade de captação ao longo do tempo permanecem incertas. Mogyorósi e Ziyadeh (1999) descreveram aumento da expressão de GLUT-1 em resposta à hiperglicemia *in vitro*, mas isso impossibilita comparações em relação ao tempo de desenvolvimento da doença e o modelo experimental. Assim sendo, o aumento de captação parece acarretar na elevação da oxidação da glicose observada e, possivelmente é referente à atividade do transportador GLUT-1, e não ao GLUT-4, após 30 dias de indução da doença. Não foram encontrados trabalhos que de fato evidenciem o tempo necessário para desenvolvimento da deficiência de captação e consequente diminuição da ação glicolítica para oxidação de glicose muscular no diabetes tipo 1, que aqui não foram observadas, o que evidencia a necessidade de mais estudos para elucidação do fenômeno aqui observado.

O tratamento com erva-mate foi um fator compensador no aumento de captação e oxidação de glicose observada nos diabéticos. Isso porque o grupo DBT-Mate apresentou valores menores aos do grupo DBT e iguais aos dos grupos controle. O mecanismo pelo qual isso ocorre provavelmente se dá através da correção da dislipidemia, descrito anteriormente, fator sabidamente danoso ao metabolismo do músculo esquelético e consequentemente a sua atividade de captação de glicose (PAN *et al.*, 1997). Contudo, o desconhecimento do fenômeno observado nos ratos diabéticos 30 dias após indução (STZ), que se apresentou aparentemente discrepante da literatura, seria de grande auxílio para efetivamente afirmar o mecanismo envolvido na compensação do mate sobre os parâmetros avaliados. Ainda assim, é importante lembrar que a utilização de ácidos graxos livres como consequência da ação das catecolaminas, liberadas pela ação estimulatória das xantinas do mate. Isso explicaria a diminuição da captação e oxidação de glicose. Mas essa teoria poderia ser explicada pela avaliação de outras vias metabólicas do músculo (NEWSHOLME; LEECH, 1984).

Os níveis de conversão de glicose em glicogênio não foram alterados por ação do modelo nem do tratamento, o que é discrepante de alguns dados na literatura (DEL PRATO *et al.*, 1993; FREYMOND *et al.*, 1988), o qual descreveram uma diminuição da captação e utilização da glicose para construção de depósitos energéticos, como o glicogênio, no

músculo de indivíduos acometidos por diabetes como consequência da dislipidemia combinada à hiperglicemia. Novamente, os fatores envolvidos nesse fenômeno permanecem incertos quanto ao tempo de desenvolvimento da doença. Todavia, as frações do material predominantemente auxiliam na degradação dos estoques, e não teriam conseqüentemente propriedades para reestabelecer as reservas energéticas deste tecido.

6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

O diabetes é uma doença de importância epidemiológica inegável principalmente em países em desenvolvimento, como o Brasil. São observados com cada vez mais frequência, casos de diabetes tipo 1 e particularmente do tipo 2, o que preocupa as autoridades mundiais de saúde e evidencia a necessidade de esforços no combate a esta enfermidade. Diante dos resultados encontrados na literatura sobre a atividade biológica benéfica da erva-mate tanto na forma de extrato bruto como através das suas frações ricas em polifenóis, metilxantinas e saponinas, ainda são poucos os estudos sobre aspectos do metabolismo energético no diabetes para que se possa afirmar a segurança e os benefícios do consumo da erva-mate por indivíduos acometidos por esta doença.

Neste trabalho, diversos parâmetros metabólicos foram avaliados no músculo esquelético, fígado e soro. Nas variáveis morfométricas foram observadas a diminuição do peso corporal, tecido adiposo (retroperitoneal e epididimal) e músculo, e aumento no peso do fígado. O mate apresentou dois efeitos importantes: o primeiro desfecho descreveu uma diminuição do peso do tecido adiposo retroperitoneal nos animais controles tratados com mate, o que sugere uma ação lipolítica; e em segundo, uma reversão da perda de peso no tecido muscular de ratos diabéticos tratados com mate próximos aos níveis dos animais, mostrando uma ação protetora do mate diante da proteólise muscular intensa no diabetes.

O soro dos animais diabéticos mostrou valores aumentados de glicose, triglicerídeos, colesterol, ureia, creatinina e ALT/TGP, e diminuídos de insulina, HDL-colesterol, e proteínas totais. Contudo, após o tratamento com *I. paraguariensis* houve uma reversão nos níveis de glicose, creatinina, ureia e proteínas totais, o que sugere uma ação benéfica da erva-mate por diminuir a glicemia e proteger, especialmente o tecido muscular, contra o quadro de proteólise. Contudo, os níveis de HDL-colesterol e ALT/TGP foram agravados, indicando a necessidade de mais estudos para confirmar a ausência de toxicidade hepática no consumo da erva-mate mesmo em estados patológicos como o diabetes.

São necessários mais estudos para apontar a segurança da ingestão de erva-mate não necessariamente como fator preventivo em indivíduos saudáveis, mas sim especialmente pelos indivíduos acometidos pelo diabetes para enfim sugerir seu uso como adjuvante terapêutico. Ainda verificar a ação específica dos compostos (polifenóis, metilxantinas e saponinas) com a finalidade de apontar quais frações levariam aos mesmos desfechos aqui observados.

Na presença do diabetes experimental foi possível observar mudanças expressivas no metabolismo do músculo esquelético pelos ensaios de captação e oxidação de glicose. Parâmetros estes revertidos próximos aos valores basais encontrados nos controles após 30 dias de tratamento com erva-mate. Isso sugere uma ação efetiva dos compostos do mate em parâmetros metabólicos alterados no diabetes e ainda um mecanismo protetor no tecido muscular.

No fígado, foi encontrada uma expressiva alteração do metabolismo energético no diabetes: oxidação de glicose, bem como a sua conversão em lipídios e glicogênio; e nos valores de colesterol e triglicerídeos teciduais. Apenas o colesterol tecidual foi melhorado pelo tratamento com mate. O número de trabalhos que abordam em conjunto aspectos dinâmicos e pontuais do metabolismo energético ainda é escasso. Assim, a avaliação da expressão proteica ou gênica em conjunto com a avaliação da atividade de enzimas específicas das rotas metabólicas, além da verificação de ensaios dinâmicos, como aqui apresentados (oxidação, captação, conversão tecidual de substratos em estoques energéticos), ser dificilmente encontrada em artigos recentemente publicados.

Como perspectivas, portanto torna-se inegável a necessidade da realização de estudos que contenham estes aspectos. Como continuação deste trabalho especificamente, a verificação da atividade e expressão de enzimas-chave nas vias de síntese de glicogênio e colesterol, assim como no músculo aquelas atuantes no metabolismo de proteínas e no tecido adiposo as enzimas participantes do metabolismo de lipídios, podem contribuir expressivamente para a o entendimento dos resultados obtidos neste trabalho.

REFERÊNCIAS

ABDULLAH, N. *et al.* The architecture of risk for type 2 diabetes: understanding asia in the context of global findings. **International Journal of Endocrinology**, [s.l.], v. 2014, p.1-21, março. 2014. Hindawi Publishing Corporation. DOI: 10.1155/2014/593982.

AIRES, Margarida de Mello. **Fisiologia**. [s.l.]: Guanabara Koogan, 2012.

AL-ACHI, A.; GREENWOOD, R. A brief report on some physiological parameters of streptozocin-diabetic rat. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, [s.l.], v. 27, n. 5, p.465-468, jan. 2001. DOI: 10.1081/ddc-100104322.

ALBERTI, K. *et al.* Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the international diabetes federation task force on epidemiology and prevention; national heart, lung, and blood institute; american heart association; world heart federation; international atherosclerosis society; and international association for the study of obesity. **Circulation**, [s.l.], v. 120, n. 16, p.1640-1645, out. 2009. DOI: 10.1161/circulationaha.109.192644.

ALBERTI, K.G.; ZIMMET, P. Z. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus Provisional Report of A WHO Consultation. **Diabetic Medicine**, UK, v. 7, n. 15, p.539-553, jul. 1998.

American Diabetes Association. Screening for type 2 diabetes. **Diabetes Care**, [s.l.], v. 26, n. 1, p.21-24, 1 jan. 2003. DOI: 10.2337/diacare.26.2007.s21.

ANDERSEN, T.; FOGH, J.. Weight loss and delayed gastric emptying following a South American herbal preparation in overweight patients. **Journal of Human Nutrition and Dietetics**, [s.l.], v. 14, n. 3, p.243-250, jun. 2001. DOI: 10.1046/j.1365-277x.2001.00290.x.

ANDRADE, F. *et al.* Safety assessment of yerba mate (*ilex paraguariensis*) dried extract: results of acute and 90 days subchronic toxicity studies in rats and rabbits. **Food and Chemical Toxicology**, [s.l.], v. 50, n. 2, p.328-334, fev. 2012. DOI: 10.1016/j.fct.2011.08.028.

ANDRADE, F. M. Exploração, manejo e potencial socioeconômico da erva-mate. In: SIMÕES, L. L.; LINO, C. F. (Org). Sustentável Mata Atlântica: a exploração de seus recursos florestais. São Paulo: SENAC, 2002.

Anuário Brasileiro da erva-mate. Santa Cruz do Sul. Editora Gazeta. p.64,1999

ARÇARI, D. P. *et al.* Anti-inflammatory effects of yerba maté extract (*Ilex paraguariensis*) ameliorate insulin resistance in mice with high fat diet-induced obesity. **Molecular and Cellular Endocrinology**, [s.l.], v. 335, n. 2, p.110-115, mar. 2011. DOI: 10.1016/j.mce.2011.01.003.

ARÇARI, D. P. *et al.* Antiobesity effects of yerba maté extract (*Ilex paraguariensis*) in High-fat Diet–induced Obese Mice. **Obesity**, [s.l.], v. 17, n. 12, p.2127-2133, 14 maio 2009. DOI: 10.1038/oby.2009.158.

ARÇARI, D. P. *et al.* Modulatory effects of yerba maté (*Ilex paraguariensis*) on the PI3K-AKT signaling pathway. **Molecular Nutrition & Food Research**, [s.l.], p.1882-1885, maio 2013. DOI: 10.1002/mnfr.201200834.

ARNAUD, M. J. Pharmacokinetics and metabolism of natural methylxanthines in animal and man. **Methylxanthines**, [s.l.], p.33-91, 19 ago. 2010. DOI: 10.1007/978-3-642-13443-2_3.

ARNER, P. *et al.* Effect of phosphodiesterase inhibition with amrinone or theophylline on lipolysis and blood flow in human adipose tissue *in vivo* as measured with microdialysis. **J Lipid Res**, [s.l.], v. 34, n. 10, p.1737-1743, out. 1993.

ARTS, I. C. W.; HOLLMAN, P. C.. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. **The American Journal of Clinical Nutrition**, [s.l.], v. 81, [s.n.], p.317-325, jan. 2005.

AVMA. **Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2013 Edition**. American Veterinary Medical Association, Version 2013.0.1, 2013.

BALZAN, S. *et al.* Lipid-lowering effects of standardized extracts of *Ilex paraguariensis* in high-fat-diet rats. **Fitoterapia**, [s.l.], v. 86, p.115-122, abr. 2013. DOI: 10.1016/j.fitote.2013.02.008.

BARON, A. D. *et al.* Glucosamine induces insulin resistance *in vivo* by affecting GLUT 4 translocation in skeletal muscle. Implications for glucose toxicity. **Journal of Clinical Investigation**, [s.l.], v. 96, n. 6, p.2792-2801, 1 dez. 1995. DOI: 10.1172/jci118349..

BARON, A. D. *et al.* Role of hyperglucagonemia in maintenance of increased rates of hepatic glucose output in type ii diabetics. **Diabetes**, [s.l.], v. 36, n. 3, p.274-283, mar. 1987. DOI: 10.2337/diab.36.3.274.

BARON, H.; ROHEIM, P. S.; EDER, H. A. Hyperlipoproteinemia in streptozotocin-treated rats. **Diabetes**, [s.l.], v. 25, n. 6, p.509-515, 1 jun. 1976. DOI: 10.2337/diab.25.6.509.

BARR, E. L. M. *et al.* Risk of cardiovascular and all-cause mortality in individuals with diabetes mellitus, impaired fasting glucose, and impaired glucose tolerance: the australian diabetes, obesity, and lifestyle study (ausdiab). **Circulation**, [s.l.], v. 116, n. 2, p.151-157, 25 jun. 2007. DOI: 10.1161/circulationaha.106.685628.

BASTOS, D. H. *et al.* Phenolic antioxidants identified by esi-ms from yerba maté (*Ilex paraguariensis*) and green tea (*Camellia sinensis*) extracts. **Molecules**, [s.l.], v. 12, n. 3, p.423-432, 12 mar. 2007. DOI: 10.3390/12030423.

BASTOS, D. H. M. *et al.* Yerba mate: pharmacological properties, research and biotechnology. **Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences**, v. 1, n. 1, p. 37-46, 2007.

BENNET, R. A.; PEGG, A. E. Alkylation of DNA in rat tissues following administration of streptozotocin. **Cancer Research**, [s.l.], v. 41, n. 7, p.2786-2790, jul. 1981.

BERLAN, M.; LAFOTAN, M.; DANG, T. L. Adrenergic lipolysis in human fat cells: properties and physiological role of alpha-adrenergic receptors(author's transl). **J Physiol (paris)**, [s.l.], v. 76, n. 2, p.133-146, 1980.

BINNERT, C. *et al.* Fatty acid transport protein-1 mRNA expression in skeletal muscle and in adipose tissue in humans. **Am J Physiol Endocrinol Metabolism**, [s.l.], v. 279, n. 5, p. 1072-1079, nov. 2000.

BIXBY, M. *et al.* *Ilex paraguariensis* extracts are potent inhibitors of nitrosative stress: A comparative study with green tea and wines using a protein nitration model and mammalian

cell cytotoxicity. **Life Sciences**, [s.l.], v. 77, n. 3, p.345-358, jun. 2005. DOI: 10.1016/j.lfs.2004.11.030.

BLAAK, E. E., *et al.* Plasma FFA utilization and fatty acid-binding protein content are diminished in type 2 diabetic muscle. **Am J Physiol Endocrinol Metabolism**, [s.l.], v. 279, n. 1, p. 146-154, jul. 2000.

BOGARDUS, C. *et al.* Relationships between insulin secretion, insulin action, and fasting plasma glucose concentration in nondiabetic and noninsulin-dependent diabetic subjects. **Journal of Clinical Investigation**, [s.l.], v. 74, n. 4, p.1238-1246, 1 out. 1984. DOI: 10.1172/jci111533.

BOIRIE, Y. Insulin regulation of mitochondrial proteins and oxidative phosphorylation in human muscle. **Trends In Endocrinology and Metabolism**, [s.l.], v. 14, n. 9, p.393-394, nov. 2003. DOI: 10.1016/j.tem.2003.09.002.

BOJIĆ, M. *et al.* Determination of flavonoids, phenolic acids, and xanthines in mate tea (*Ilex paraguariensis* St.-Hil.). **Journal of Analytical Methods In Chemistry**, [s.l.], v. 2013, p.1-6, 2013. DOI: 10.1155/2013/658596.

BORTOLUZZI, Mc. *et al.* Frequency of micronucleus in oral epithelial cells after exposure to mate-tea in healthy humans. **Med Oral**, [s.l.], p.345-349, 2014. DOI: 10.4317/medoral.19570.

BOULÉ, N. G. *et al.* Effects of exercise on glycemic control and body mass in type 2 diabetes mellitus. **Jama**, [s.l.], v. 286, n. 10, p.1218-1227, set. 2001. DOI: 10.1001/jama.286.10.1218.

BRACESCO, N. *et al.* Antioxidant activity of a botanical extract preparation of *ilex paraguariensis*: prevention of dna double-strand breaks in *saccharomyces cerevisiae* and human low-density lipoprotein oxidation. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, [s.l.], v. 9, n. 3, p.379-387, jun. 2003. DOI: 10.1089/107555303765551606.

BRACESCO, N. *et al.* Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: Minireview. **Journal of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 136, n. 3, p.378-384, jul. 2011. DOI: 10.1016/j.jep.2010.06.032.

Brownlee, M. *et al.* Complicações do diabete melito. In: KRONENBERG, Henry M. *et al.* **Williams Textbook of Endocrinology**. [s.l.]: Elsevier, 2008. p. 1124-1189. (2008).

BURGSTALLER, J. A. **700 Hierbas Medicinales**. Buenos Aires: Edicial Sa, 1994.

BUSE, J. B. *et al.* Diabete Melito Tipo 2. In: KRONENBERG, Henry M. *et al.* **Williams Textbook of Endocrinology**. [s.l.]: Elsevier, 2008. p. 1058-1102. (2008).

CARLSON, L. A.; EKELUND, L. G.; FRÖBERG, S.O. Concentration of triglycerides, phospholipids and glycogen in skeletal muscle and of free fatty acids and beta-hydroxybutyric acid in blood in man in response to exercise. **European Journal of Clinical Investigation**, [s.l.], v. 1, n. 4, p.248-254, jan. 1971.

CHEN, X.; IQBAL, N.; BODEN, G. The effects of free fatty acids on gluconeogenesis and glycogenolysis in normal subjects. **Journal of Clinical Investigation**, [s.l.], v. 103, n. 3, p.365-372, fev. 1999. DOI: 10.1172/jci5479.

CHEUNG, A. T. *et al.* Tumor necrosis factor-alpha induces hepatic insulin resistance in obese Zucker (fa/fa) rats via interaction of leukocyte antigen-related tyrosine phosphatase with focal adhesion kinase. **Diabetes**, [s.l.], v. 49, n. 5, p.810-819, maio 2000. DOI: 10.2337/diabetes.49.5.810.

CHIASSON, J. L. *et al.* Differential sensitivity of glycogenolysis and gluconeogenesis to insulin infusions in dogs. **Diabetes**, [s.l.], v. 25, n. 4, p.283-291, abr. 1976. DOI: 10.2337/diab.25.4.283.

CHIEN, S.; Li, S.; SHYY, Y. J. Effects of mechanical forces on signal transduction and gene expression in endothelial cells. **Hypertension**, [s.l.], v. 31, n. 1, p.162-169, 1 jan. 1998. DOI: 10.1161/01.hyp.31.1.162.

CHLAMTAC E. B. Enzimas no mate: polifenoloxidase. **Bol Inst Quím Agríc.**;v. 39, p.7-12, 1955

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR. **NN 8.01 RESOLUÇÃO CNEN 167/14 ABRIL / 2014: GERÊNCIA DE REJEITOS RADIOATIVOS DE BAIXO E MÉDIO NÍVEIS DE RADIAÇÃO**. [s.l.], 14 abril 2014.

COPPACK, S. W. *et al.* Pro-inflammatory cytokines and adipose tissue. **Proceedings of The Nutrition Society**, [s.l.], v. 60, n. 03, p.349-356, ago. 2001. DOI: 10.1079/pns2001110.

CUNHA, F. L. da *et al.* Reduction in oxidative stress levels in the colonic mucosa without fecal stream after the application of enemas containing aqueous *Ilex paraguariensis* extract. **Acta Cirurgica Brasileira**, [s.l.], v. 26, n. 4, p.289-296, ago. 2011. DOI: 10.1590/s0102-86502011000400008.

DANAIEI, G. *et al.* Global and regional mortality from ischaemic heart disease and stroke attributable to higher-than-optimum blood glucose concentration: comparative risk assessment. **The Lancet**, [s.l.], v. 368, n. 9548, p.1651-1659, nov. 2006. DOI: 10.1016/s0140-6736(06)69700-6.

DANAIEI, G. *et al.* National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. **The Lancet**, [s.l.], v. 378, n. 9785, p.31-40, jul. 2011. DOI: 10.1016/s0140-6736(11)60679-x.

DAS, A. V; PADAYATTI, P. S.; PAULOSE, C. S. Effect of leaf extract of *Aegle marmelose* (L.) Correa ex Roxb. On histological and ultrastructural changes in tissues of streptozotocin induced diabetic rats. **Indian J Exp Biol**, [s.l.], v. 34, n. 3, p.341-345, abr. 1996.

DAVIS, J. M. *et al.* Central nervous system effects of caffeine and adenosine on fatigue. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, [s.l.], v. 284, n. 2, p.399-404, 24 out. 2002. DOI: 10.1152/ajpregu.00386.2002.

Del PRATO, S. *et al.* Characterization of cellular defects of insulin action in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. **Journal of Clinical Investigation**, [s.l.], v. 91, n. 2, p.484-494, fev. 1993. DOI: 10.1172/jci116226.

DEPRE, C.; VANOVERSCHELDE, J. J.; TAEGTMEYER, H. Glucose for the Heart. **Circulation**, [s.l.], v. 99, n. 4, p.578-588, 2 fev. 1999.

DICKEL, M. L.; RATES, S. M. K.; RITTER, M. R. Plants popularly used for losing weight purposes in Porto Alegre, South Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 109, n. 1, p.60-71, jan. 2007. DOI: 10.1016/j.jep.2006.07.003.

DOLAN, M. E. Inhibition of DNA repair as a means of increasing the antitumor activity of DNA reactive agents. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s.l.], v. 26, n. 2-3, p.105-118, jul. 1997. DOI: 10.1016/s0169-409x(97)00028-8.

DUDONNÉ, S. *et al.* Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. **J. Agric. Food Chem.**, [s.l.], v. 57, n. 5, p.1768-1774, 11 mar. 2009. DOI: 10.1021/jf803011r.

EISENBARTH, G. S.; Polonsky, K. S.; Buse, J. B. *et al.* Diabete Melito Tipo 1. In: KRONENBERG, Henry M. *et al.* **Williams Textbook of Endocrinology**. [s.l.]: Elsevier, 2008. p. 1103-1123. (2008).

EISENBARTH, G.S. Type I Diabetes Mellitus. **New England Journal of Medicine**, [s.l.], v. 314, n. 21, p.1360-1368, maio. 1986. DOI: 10.1056/nejm198605223142106.

ELEAZU, C. *et al.* Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans. **Journal of Diabetes & Metabolic Disorders**, [s.l.], v. 12, n. 1, p.60, 2013. DOI: 10.1186/2251-6581-12-60.

EL-KADER, S. M. Abd. Non-alcoholic fatty liver disease: the diagnosis and management. **Wjh**, [s.l.], v. 7, n. 6, p.846-858, 2015. DOI: 10.4254/wjh.v7.i6.846.

EL-SEIFI, S. *et al.* Na⁺-H⁺ exchange and Na⁺-dependent transport systems in streptozotocin diabetic rat kidneys. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, [s.l.], v. 252, n. 1, p.40-47, jan. 1987.

ELSNER, M. *et al.* Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin. **Diabetologia**, [s.l.], v. 43, n. 12, p.1528-1533, nov. 2000.

FILIP, R. *et al.* Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. **Nutrition Research**, [s.l.], v. 20, n. 10, p.1437-1446, out. 2000. DOI: 10.1016/s0271-5317(00)80024-x.

FILIP, R.; FERRARO, G. E. Researching on new species of: *Ilex brevicuspis*. **European Journal of Nutrition**, [s.l.], v. 42, n. 1, p.50-54, 1 fev. 2003. DOI: 10.1007/s00394-003-0399-1.

FINUCANE, M. M. *et al.* National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960

country-years and 9·1 million participants. **The Lancet**, [s.l.], v. 377, n. 9765, p.557-567, fev. 2011. DOI: 10.1016/s0140-6736(10)62037-5.

FREYMOND, D. *et al.* Impaired insulin-stimulated muscle glycogen synthase activation *in vivo* in man is related to low fasting glycogen synthase phosphatase activity. **Journal of Clinical Investigation**, [s.l.], v. 82, n. 5, p.1503-1509, 1 nov. 1988. DOI: 10.1172/jci113758.

FUNNELL, M. M. *et al.* National standards for diabetes self-management education. **Diabetes Care**, [s.l.], v. 33, n. 1, p.89-96, 30 dez. 2009. DOI: 10.2337/dc10-s089.

GAMBERO, A.; RIBEIRO, M. The positive effects of yerba maté (*Ilex paraguariensis*) in obesity. **Nutrients**, [s.l.], v. 7, n. 2, p.730-750, 22 jan. 2015. DOI: 10.3390/nu7020730.

GAO, H. *et al.* Aqueous extract of yerba mate tea lowers atherosclerotic risk factors in a rat hyperlipidemia model. **Phytother. Res.**, [s.l.], v. 27, n. 8, p.1225-1231, 10 out. 2012. DOI: 10.1002/ptr.4856.

GARLAND, P. B; NEWSHOLME, E. A.; RANDLE, P. J. Regulation of glucose uptake by muscle. 8. Effects of fatty acids and ketone bodies, and of alloxan-diabetes and starvation, on pyruvate metabolism and on lactate-pyruvate and L-glycerol 3-phosphate-dihydroxyacetone phosphate concentration ratios in rat heart and rat diaphragm muscles. **Biochemistry Journal**. [s.l.], v. 93, n. 3, p. 652-665, dez. 1964.

GILLESPIE, S. J; KULKARNI, K. D.; DALY, A. E. Using carbohydrate counting in diabetes clinical practice. **Journal of The American Dietetic Association**, [s.l.], v. 98, n. 8, p.897-905, ago. 1998. DOI: 10.1016/s0002-8223(98)00206-5.

GIMENO, S. G. A. *et al.* Japanese-brazilian diabetes study group cardiovascular mortality in japanese-brazilians according to category of glucose tolerance. **Diabetes**, [s.l.], v. 51, n. 2, p.225 2002.

GINSBERG, H. N. Insulin resistance and cardiovascular disease. **Journal of Clinical Investigation**, [s.l.], v. 106, n. 4, p.453-458, 15 ago. 2000. DOI: 10.1172/jci10762.

GIULIAN, R. **Estudo da composição elementar da erva-mate (*Ilex paraguariensis*)**. 2005. 109 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Física, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

GOLLNICK, P. D.; SALTIN, B. Significance of skeletal muscle oxidative enzyme enhancement with endurance training. **Clin Physiol**, [s.l.], v. 2, n. 1, p.1-12, fev. 1982. DOI: 10.1111/j.1475-097x.1982.tb00001.x.

GOMES, L. F. **Efeito da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) sobre aspectos do metabolismo de ratos normais e diabéticos**. 2009. 58 f. Monografia - Curso de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

GOMES, L. F. **Efeito da erva-mate (*ilex paraguariensis*) sobre o metabolismo de ratos tratados com dieta hiperlipídica**. 2012. 64 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Ciências Biológicas: Fisiologia, Fisiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

GONZÁLEZ, A. *et al.* Biological screening of Uruguayan medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 39, n. 3, p.217-220, ago. 1993. DOI: 10.1016/0378-8741(93)90040-c.

GRAF, B. A.; MILBURY, P. E.; BLUMBERG, J. B. Flavonols, flavones, flavanones, and human health: epidemiological evidence. **Journal of Medicinal Food**, [s.l.], v. 8, n. 3, p.281-290, set. 2005. DOI: 10.1089/jmf.2005.8.281.

GRANGER, C. B. *et al.* Outcome of patients with diabetes mellitus and acute myocardial infarction treated with thrombolytic agents. **Journal of The American College of Cardiology**, [s.l.], v. 21, n. 4, p.920-925, mar. 1993. DOI: 10.1016/0735-1097(93)90348-5.

GUGLIUCCI, A. Antioxidant effects of *ilex paraguariensis*: induction of decreased oxidability of human ldl *in vivo*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [s.l.], v. 224, n. 2, p.338-344, jul. 1996. DOI: 10.1006/bbrc.1996.1030.

GUGLIUCCI, A.; STAHL, A. J. C. Low density lipoprotein oxidation is inhibited by extracts of *Ilex paraguariensis*. **Biochemistry and Molecular Biology International**, [s.l.], v. 35, n. 1, p.47-56, jan. 1995.

GUMA, A. *et al.* Insulin induces translocation of GLUT-4 glucose transporters in human skeletal muscle. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, [s.l.], v. 268, n. 4, p. 613-622, abr. 1995.

HARRIS, M. I. *et al.* Onset of NIDDM occurs at Least 4-7 yr Before Clinical Diagnosis. **Diabetes Care**, [s.l.], v. 15, n. 7, p.815-819, 1 jul. 1992. DOI: 10.2337/diacare.15.7.815.

HECK, C. I.; DE MEJIA, E. G. Yerba mate tea (*Ilex paraguariensis*): A comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **J Food Sci**, v.72, n.9, p.138-151, 2007.

HERZIG, S. *et al.* CREB regulates hepatic gluconeogenesis through the coactivator PGC-1. **Nature**, [s.l.], v. 413, n. 6852, p.179-183, 13 set. 2001. DOI: 10.1038/35093131

HOTTA, K. *et al.* Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, [s.l.], v. 20, n. 6, p.1595-1599, jun. 2000. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). DOI: 10.1161/01.atv.20.6.1595.

HOWARD, B. V. *et al.* Risk factor clustering in the insulin resistance syndrome and its relationship to cardiovascular disease in postmenopausal white, black, hispanic, and Asian/Pacific Islander women. **Metabolism**, [s.l.], v. 52, n. 3, p.362-371, mar. 2003. DOI: 10.1053/meta.2003.50057.

HUSSEIN, G. M. E. *et al.* Mate tea (*ilex paraguariensis*) promotes satiety and body weight lowering in mice: involvement of glucagon-like peptide-1. **Biol. Pharm. Bull.**, [s.l.], v. 34, n. 12, p.1849-1855, 2011. DOI: 10.1248/bpb.34.1849.

HUSSEIN, G. M. E. *et al.* Protective and ameliorative effects of maté (*Ilex paraguariensis*) on metabolic syndrome in TSOD mice. **Phytomedicine**, [s.l.], v. 19, n. 1, p.88-97, dez. 2011. DOI: 10.1016/j.phymed.2011.06.036.

IWASAKA, T. *et al.* Residual left ventricular pump function after acute myocardial infarction in niddm patients. **Diabetes Care**, [s.l.], v. 15, n. 11, p.1522-1526, 1 nov. 1992.

JQUES, A. R. **Caracterização química da erva-mate (*Ilex paraguariensis*):** aplicação de diferentes processos de extração e influência das condições de plantio sobre a composição química. 2005. 130 f. Tese (Doutorado) - Curso de Doutorado em Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

JUNOD, A. *et al.* Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. **Journal of Clinical Investigation**, [s.l.], v. 48, n. 11, p.2129-2139, 1 nov. 1969. DOI: 10.1172/jci106180.

KAHN, B. B. *et al.* Decreased *in vivo* glucose uptake but normal expression of GLUT1 and GLUT4 in skeletal muscle of diabetic rats. **Journal of Clinical Investigation**, [s.l.], v. 87, n. 6, p.2197-2206, 1 jun. 1991. DOI: 10.1172/jci115254.

KAINULAINEN, H. *et al.* *In vivo* glucose uptake and glucose transporter proteins GLUT1 and GLUT4 in heart and various types of skeletal muscle from streptozotocin-diabetic rats. **Biochimica Et Biophysica Acta (bba) - Molecular Basis of Disease**, [s.l.], v. 1225, n. 3, p.275-282, 22 fev. 1994. DOI: 10.1016/0925-4439(94)90007-8.

KAISER, N. *et al.* Differential regulation of glucose transport and transporters by glucose in vascular endothelial and smooth muscle cells. **Diabetes**, [s.l.], v. 42, n. 1, p.80-89, 1 jan. 1993. DOI: 10.2337/diabetes.42.1.80.

KANANLEY, J. A.; WEINSTOCK, R.S. Nonpharmacologic therapy in the treatment of insulin resistance. **Herz**, [s.l.], v. 20, n. 1, p. 56-69, fev. 1995.

KARNIELI, E.; ARMONI, M. Regulation of glucose transporters in diabetes. **Hormone Research**, [s.l.], v. 33, n. 2-4, p.99-104, 1990.

KHAW, K-T. Association of hemoglobin a_{1c} with cardiovascular disease and mortality in adults: the european prospective investigation into cancer in norfolk. **Annals of Internal Medicine**, [s.l.], v. 141, n. 6, p.413-420, 21 set. 2004. DOI: 10.7326/0003-4819-141-6-200409210-00006.

KICHRL, I. **Aspectos econômicos da atividade ervateira no Rio Grande do Sul**. 2002. 79 f. TCC (Graduação) - Curso de Bacharelado em Economia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

KIHARA, M. *et al.* Aminoguanidine effects on nerve blood flow, vascular permeability, electrophysiology, and oxygen free radicals. **Proceedings of The National Academy of Sciences**, [s.l.], v. 88, n. 14, p.6107-6111, 15 jul. 1991. DOI: 10.1073/pnas.88.14.6107.

KIM, H. K. *et al.* Metabolic classification of South American *Ilex* species by NMR-based metabolomics. **Phytochemistry**, [s.l.], v. 71, n. 7, p.773-784, maio 2010. DOI: 10.1016/j.phytochem.2010.02.001.

KIM, J. A. *et al.* Evidence that glucose increases monocyte binding to human aortic endothelial cells. **Diabetes**, [s.l.], v. 43, n. 9, p.1103-1107, 1 set. 1994. DOI: 10.2337/diab.43.9.1103.

KING, P. *et al.* The UK prospective diabetes study (UKPDS): clinical and therapeutic implications for type 2 diabetes. **British Journal of Clinical Pharmacology**, [s.l.], v. 48, n. 5, p.643-648, dez. 2001. DOI: 10.1046/j.1365-2125.1999.00092.x.

KLEIN, A. G. *et al.* Mate tea (*Ilex paraguariensis*) improves glycemic and lipid profiles of type 2 diabetes and pre-diabetes individuals: a pilot study. **J Am Coll Nutr**, [s.l.], v. 30, n. 5, p.320-332, out. 2011.

KLEIN, R. Hyperglycemia and microvascular and macrovascular disease in diabetes. **Diabetes Care**, [s.l.], v. 18, n. 2, p.258-268, fev. 1995.

KLIP, A. *et al.* Effect of diabetes on glucoregulation: from glucose transporters to glucose metabolism *in vivo*. **Diabetes Care**, [s.l.], v. 15, n. 11, p.1747-1766, 1 nov. 1992. DOI: 10.2337/diacare.15.11.1747.

KOHN, D. F.; B., Charles. Biology and diseases of rats. In: FOX, James G. *et al.* **Laboratory Animal Medicine**. [s.l.]: Elsevier Inc, 2002. p. 121-165.

KONDRATYUK, T. P.; PEZZUTO, J. M. Natural product polyphenols of relevance to human health. **Pharmaceutical Biology**, [s.l.], v. 42, n. 1, p.46-63, jan. 2004. DOI: 10.3109/13880200490893519.

KOOP, J. B. *et al.* Transgenic mice with increased plasma levels of TGF-beta 1 develop progressive renal disease. **Laboratory Investigation**, [s.l.], v. 74, n. 6, p.991-1003, jun. 1991.

KORUP, E. *et al.* Comparison of degrees of left ventricular dilation within three hours and up to six days after onset of first acute myocardial infarction. **The American Journal of Cardiology**, [s.l.], v. 80, n. 4, p.449-453, ago. 1997. DOI: 10.1016/s0002-9149(97)00393-7.

KOSTER, J. *et al.* Influence of adipocyte size and adipose depot on the *in vitro* lipolytic activity and insulin sensitivity of adipose tissue in dairy cows at the end of the dry period. **Journal of Dairy Science**, [s.l.], v. 99, n. 3, p.2319-2328, mar. 2016. DOI: 10.3168/jds.2015-10440.

KRENTZ, A. J. *et al.* Insulin resistance: a risk marker for disease and disability in the older person. **Diabet. Med.**, [s.l.], v. 30, n. 5, p.535-548, 15 abr. 2013. DOI: 10.1111/dme.12063

KUZUYA, T.; MATSUDA, A. Classification of diabetes on the basis of etiologies versus degree of insulin deficiency. **Diabetes Care**, [s.l.], v. 20, n. 2, p.219-220, fev. 1997. DOI: 10.2337/diacare.20.2.219.

LAFONTAN, M. Advances in adipose tissue metabolism. **Int J Obes Relat Metab Disord**, [s.l.], v. 32, p.39-51, dez. 2008. DOI: 10.1038/ijo.2008.237.

LAWES, C. M. *et al.* Blood glucose and risk of cardiovascular disease in the asia pacific region. **Diabetes Care**, [s.l.], v. 27, n. 12, p.2836-2842, 23 nov. 2004. DOI: 10.2337/diacare.27.12.2836.

LEE, J. H. *et al.* Pharmacokinetics of drugs in rats with diabetes mellitus induced by alloxan or streptozocin: comparison with those in patients with type I diabetes mellitus. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, [s.l.], v. 62, n. 1, p.1-23, jan. 2010. DOI: 10.1211/jpp.62.01.0001

LEE, S. L. *et al.* Alterations in Ca²⁺-channels during the development of diabetic cardiomyopathy. **Molecular and Cellular Biochemistry**, [s.l.], 2, p.173-179, fev. 1992. 109.

LIMA, N. S. *et al.* *Ilex paraguariensis* (yerba mate) improves endocrine and metabolic disorders in obese rats primed by early weaning. **European Journal of Nutrition**, [s.l.], v. 53, n. 1, p.73-82, 9 fev. 2013. DOI: 10.1007/s00394-013-0500-3.

LOGANATHAN, Rajprasad *et al.* Cardiac dysfunction in the diabetic rat: quantitative evaluation using high resolution magnetic resonance imaging. **Cardiovasc Diabetol**, [s.l.], v. 5, n. 1, p.7, 2006. DOI: 10.1186/1475-2840-5-7.

LONG, Y. C. AMP-activated protein kinase signaling in metabolic regulation. **Journal of Clinical Investigation**, [s.l.], v. 116, n. 7, p.1776-1783, 3 jul. 2006. DOI: 10.1172/jci29044.

LUNCEFORD, N.; GUGLIUCCI, A. *Ilex paraguariensis* extracts inhibit AGE formation more efficiently than green tea. **Fitoterapia**, [s.l.], v. 76, n. 5, p.419-427, jul. 2005. DOI: 10.1016/j.fitote.2005.03.021.

LUZ, M. **Carijos e barbaquás no Rio Grande do Sul: resistência camponesa e conservação ambiental no âmbito da fabricação artesanal de erva-mate**. 2011. 223 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Desenvolvimento Rural, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

LVES, R. J. V. *et al.* The evaluation of maté (*Ilex paraguariensis*) genetic toxicity in human lymphocytes by the cytokinesis-block in the micronucleus assay. **Toxicology In Vitro**, [s.l.], v. 22, n. 3, p.695-698, abr. 2008. DOI: 10.1016/j.tiv.2007.11.005.

MACHADO, V. L. A.; WASSERMANN, G. F.; MARQUES, M. In vitro effect of insulin on the uptake of glucose and α -aminoisobutyric acid in the thyroid gland of the turtle (*Chrysemys dorsignii*). **General and Comparative Endocrinology**, [s.l.], v. 82, n. 1, p.8-13, abr. 1991. DOI: 10.1016/0016-6480(91)90290-m.

MAGNUSSON, I. *et al.* Contribution of hepatic glycogenolysis to glucose production in humans in response to a physiological increase in plasma glucagon concentration. **Diabetes**, [s.l.], v. 44, n. 2, p.185-189, fev. 1995 DOI: 10.2337/diab.44.2.185.

MALERBI, D. A.; FRANCO, L. J. Multicenter study of the prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the urban brazilian population aged 30-69 yr. **Diabetes Care**, [s.l.], v. 15, n. 11, p.1509-1516, 1 nov. 1992. DOI: 10.2337/diacare.15.11.1509.

MALIK, S. Impact of the metabolic syndrome on mortality from coronary heart disease, cardiovascular disease, and all causes in united states adults. **Circulation**, [s.l.], v. 110, n. 10, p.1245-1250, 7 set. 2004. DOI: 10.1161/01.cir.0000140677.20606.0e.

MARSHALL, S.; BACOTE, V.; TRAXINGER, R. R. Discovery of a metabolic pathway mediating glucose-induced desensitization of the glucose transport system. Role of hexosamine biosynthesis in the induction of insulin resistance. **The Journal of Biological Chemistry**, [s.l.], v. 266, n. 8, p. 4706-4712, mar. 1991.

MARTINDALE, W. **Martindale: The Extra Pharmacopoeia**. [s.l.]: Pharmaceutical Press, 1989.

MARTINET, A. *et al.* NMR and LC-MSn characterisation of two minor saponins from *Ilex paraguariensis*. **256. Phytochem Anal**, [s.l.], v. 12, n. 1, p.48-52, jan. 2001.

MARTINET, A.; HOSTETTMANN, K.; SCHUTZ, Y. Thermogenic effects of commercially available plant preparations aimed at treating human obesity. **Phytochemistry**, [s.l.], v. 6, n. 4, p.231-238, out. 1999. DOI: 10.1016/s0944-7113(99)80014-2.

MARTÍNEZ-PINILLA, E.; OÑATIBIA-ASTIBIA, A.; FRANCO, R. The relevance of theobromine for the beneficial effects of cocoa consumption. **Frontiers In Pharmacology**, [s.l.], v. 6, p.1-5, 20 fev. 2015. DOI: 10.3389/fphar.2015.00030.

MARTINS, F. *et al.* Maté Tea Inhibits *In Vitro* Pancreatic Lipase Activity and Has Hypolipidemic Effect on High-fat Diet-induced Obese Mice. **Obesity**, [s.l.], v. 18, n. 1, p.42-47, jan. 2010. DOI: 10.1038/oby.2009.189.

MATHÉ, D. Dyslipidemia and diabetes: animal models. **Diabete Metabolisme**, [s.l.], v. 21, n. 2, p.106-111, abr. 1995.

MATSUMOTO, R. L. T. *et al.* Effects of maté tea intake on *ex vivo* LDL Peroxidation induced by three different pathways. **Nutrients**, [s.l.], v. 1, n. 1, p.18-29, 29 jun. 2009. DOI: 10.3390/nu1010018.

MATSUZAWA, Y. Establishment of a concept of visceral fat syndrome and discovery of adiponectin. **Proc. Jpn. Acad., Ser. B.** [s.l.], v. 86, n. 2, p.131-141, fev. 2010. DOI: 10.2183/pjab.86.131.

MATSUZAWA, Y. Pathophysiology and molecular mechanisms of visceral fat syndrome: the japanese experience. **Diabetes Metab. Rev.**, [s.l.], v. 13, n. 1, p.3-13, mar. 1997. DOI: 10.1002/(sici)1099-0895(199703)13:13.0.co;2-n.

MATTEI, J. *et al.* Reducing the global burden of type 2 diabetes by improving the quality of staple foods: The Global Nutrition and Epidemiologic Transition Initiative. **Globalization and Health**, [s.l.], v. 11, n. 1, p.11-23, 4 jun. 2015. DOI: 10.1186/s12992-015-0109-9.

MAURIEGE, P. *et al.* Heterogeneous distribution of beta and alpha-2 adrenoceptor binding sites in human fat cells from various fat deposits: functional consequences. **European**

Journal of Clinical Investigation, [s.l.], v. 17, n. 2, p.156-165, abr. 1987. DOI: 10.1111/j.1365-2362.1987.tb02395.x.

MCGARRY, J. D. Malonyl-coa and satiety? Food for thought. **Trends In Endocrinology & Metabolism**, [s.l.], v. 11, n. 10, p.399-400, dez. 2000. DOI: 10.1016/s1043-2760(00)00331-3.

MENINI, T. *et al.* Protective action of *ilex paraguariensis* extract against free radical inactivation of paroxonase-1 in high-density lipoprotein. **Planta Med**, [s.l.], v. 73, n. 11, p.1141-1147, set. 2007. DOI: 10.1055/s-2007-981585.

MERZOUK, H. *et al.* Time course of changes in serum glucose, insulin, lipids and tissue lipase activities in macrosomic offspring of rats with streptozotocin-induced diabetes. **Clin. Sci.**, [s.l.], v. 98, n. 1, p.21-30, 1 jan. 2000. DOI: 10.1042/cs0980021.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1998, **Dose Diária Recomendada (IDR) para adultos, definida pela Portaria n ° 33**. [s.l.]:1998.

MIRANDA, D. D. C. *et al.* Protective effects of mate tea (*Ilex paraguariensis*) on H₂O₂-induced DNA damage and DNA repair in mice. **Mutagenesis**, [s.l.], v. 23, n. 4, p.261-265, 27 fev. 2008. DOI: 10.1093/mutage/gen011.

MITRAKOU, A. *et al.* Role of reduced suppression of glucose production and diminished early insulin release in impaired glucose tolerance. **New England Journal of Medicine**, [s.l.], v. 326, n. 1, p.22-29, 2 jan. 1992 DOI: 10.1056/nejm199201023260104.

MOGYOROSI, A.; ZIYADEH, F. N. GLUT1 and TGF- α : the link between hyperglycaemia and diabetic nephropathy. **Nephrology Dialysis Transplantation**, [s.l.], v. 14, n. 12, p.2827-2829, 1 dez. 1999. DOI: 10.1093/ndt/14.12.2827.

MORAIS, E. C. *et al.* Consumption of yerba mate (*ilex paraguariensis*) improves serum lipid parameters in healthy dyslipidemic subjects and provides an additional ldl-cholesterol reduction in individuals on statin therapy. **J. Agric. Food Chem.**, [s.l.], v. 57, n. 18, p.8316-8324, 23 set. 2009. DOI: 10.1021/jf901660g.

MORAIS, E. C. *et al.* Consumption of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) improves serum lipid parameters in healthy dislipidemic subjects and provides an additional LDL-cholesterol

reduction in individuals on statin therapy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 18, p. 8316–8324, 2009.

MORRISH, N. J. *et al.* Mortality and causes of death in the WHO multinational study of vascular disease in diabetes. **Diabetologia**, [s.l.], v. 44, n. 2, p.14-21, set. 2001. DOI: 10.1007/pl00002934.

MOSIMANN, A. L. P., FILHO, D. W., SILVA, E. L. Aqueous extract of *Ilex paraguariensis* attenuates the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. **BioFactors**, v. 26, n. 1, p. 59-70, 2006.

MOSIMANN, A. L. P.; WILHELM-FILHO, D.; DA SILVA, E. L. Aqueous extract of *Ilex paraguariensis* attenuates the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. **Biofactors**, [s.l.], v. 26, n. 1, p.59-70, 2006. DOI: 10.1002/biof.5520260106.

MURAKAMI, A. N. N. *et al.* Concentration of biologically active compounds extracted from *Ilex paraguariensis* St. Hil. by nanofiltration. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 141, n. 1, p.60-65, nov. 2013. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.02.119.

NAKAGAMI, T. Hyperglycaemia and mortality from all causes and from cardiovascular disease in five populations of Asian origin. **Diabetologia**, [s.l.], v. 47, n. 3, p.385-394, 1 mar. 2004. DOI: 10.1007/s00125-004-1334-6.

NELSON, David L.; COX, Michael M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. [s.l.]: Artmed, 2014.

NESS, G. C.; CHAMBERS, C. M. Feedback and hormonal regulation of hepatic 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase: the concept of cholesterol buffering capacity. **Proc Soc Exp Biol Med**, [s.l.], v. 224, n. 1, p.8-19, maio 2000.

NESS, G. C.; ZHAO, Z.; WIGGINGS, L. Insulin and glucagon modulate hepatic 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase activity by affecting immunoreactive protein levels. **J Biol Chem**, [s.l.], v. 269, n. 46, p.29168-29172, nov. 1994.

NEWGARD, C. B. *et al.* Organizing glucose disposal: emerging roles of the glycogen targeting subunits of protein phosphatase-1. **Diabetes**, [s.l.], v. 49, n. 12, p.1967-1977, dez. 2000. DOI: 10.2337/diabetes.49.12.1967.

NEWSHOLME, E.; LEECH, A. **Biochemistry for the Medical Sciences**. Universidade de Michigan: Wiley, 1984.

NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISAS EM ALIMENTAÇÃO, 2011, Campinas. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. Campinas: Bookeditora, 2011. 161 p.

OLIVEIRA, D. M. *et al.* Yerba maté (*Ilex paraguariensis*) aqueous extract decreases intestinal sglt1 gene expression but does not affect other biochemical parameters in alloxan-diabetic Wistar rats. **J. Agric. Food Chem.**, [s.l.], v. 56, n. 22, p.10527-10532, 26 nov. 2008. DOI: 10.1021/jf8021404.

OLIVEIRA, D. M. **Influência da ingestão de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) sobre parâmetros relacionados ao diabetes mellitus e metabolismo de glicose em ratos Wistar**. 2008. 78 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

OLIVEIRA, J. E. P.; MILECH, A.; FRANCO, L. J. The prevalence of diabetes in Rio de Janeiro, Brazil. the cooperative group for the study of diabetes prevalence in Rio de Janeiro. **Diabetes Care**, [s.l.], v. 19, n. 6, p.663-666, jun. 1996.

OSI, P. L. *et al.* Prevalência de diabetes melito e tolerância à glicose diminuída na população urbana de 30 a 79 anos da cidade de São Carlos, São Paulo. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, [s.l.], v. 53, n. 6, p.726-732, ago. 2009. DOI: 10.1590/s0004-27302009000600006.

PACKER, L.; ROSEN, P.; TRITSCHLER, H.J.; KING, G.L.; AZZI, A. **Antioxidants in diabetes manegement**. : New York ,Ed. Marcel Dekker, 2000.

PAN, D. A. *et al.* Skeletal muscle triglyceride levels are inversely related to insulin action. **Diabetes**,[s.l.], v. 46, n. 6, p.983-988, 1 jun. 1997. DOI: 10.2337/diab.46.6.983

PANDEY, K. B.; RIZVI, S. I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s.l.], v. 2, n. 5, p.270-278, 2009. DOI: 10.4161/oxim.2.5.9498.

PANG, J.; CHOI, Y.; PARK, T. *Ilex paraguariensis* extract ameliorates obesity induced by high-fat diet: Potential role of AMPK in the visceral adipose tissue. **Archives of**

Biochemistry and Biophysics, [s.l.], v. 476, n. 2, p.178-185, ago. 2008. DOI: 10.1016/j.abb.2008.02.019.

PAREDES, A. M. **Variación de los hidratos de carbono durante el sapeco. Anais do II congresso Sul-Americano de erva-mate.** Encantado-RS, 2000. 3 p.

PAVEI, C. *et al.* Development and validation of an HPLC method for the characterization and assay of the saponins from *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil (Mate) Fruits. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, [s.l.], v. 30, n. 1, p.87-95, jan. 2007. DOI: 10.1080/10826070601034311.

PEDERSEN, B. K. *et al.* The metabolic role of IL-6 produced during exercise: is IL-6 an exercise factor?. **Proceedings of The Nutrition Society**, [s.l.], v. 63, n. 02, p.263-267, maio 2004. DOI: 10.1079/pns2004338.

PEREIRA, D. F. *et al.* Influence of the traditional Brazilian drink *Ilex paraguariensis* tea on glucose homeostasis. **Phytomedicine**, [s.l.], v. 19, n. 10, p.868-877, jul. 2012. DOI: 10.1016/j.phymed.2012.05.008.

PERES, R. *et al.* HPLC-DAD-ESI/MS identification and quantification of phenolic compounds in *Ilex paraguariensis* beverages and on-line evaluation of individual antioxidant activity. **Molecules**, [s.l.], v. 18, n. 4, p.3859-3871, 28 mar. 2013. DOI: 10.3390/molecules18043859.

PERRIELLO, G. *et al.* Evidence of increased systemic glucose production and gluconeogenesis in an early stage of NIDDM. **Diabetes**, [s.l.], v. 46, n. 6, p.1010-1016, jun. 1997. DOI: 10.2337/diab.46.6.1010.

PIGON, J. *et al.* Normal hepatic insulin sensitivity in lean, mild noninsulin-dependent diabetic patients. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, [s.l.], v. 81, n. 10, p.3702-3708, out. 1996. DOI: 10.1210/jcem.81.10.8855826.

PIMENTEL, G. D. *et al.* Yerba mate extract (*Ilex paraguariensis*) attenuates both central and peripheral inflammatory effects of diet-induced obesity in rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, [s.l.], v. 24, n. 5, p.809-818, maio 2013. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2012.04.016.

PITTLER, M. H.; SCHMIDT, K.; ERNST, E.. Adverse events of herbal food supplements for body weight reduction: systematic review. **Obesity Reviews**, [s.l.], v. 6, n. 2, p.93-111, maio 2005. DOI: 10.1111/j.1467-789x.2005.00169.x.

DEL PRATO, S. *et al.* Characterization of cellular defects of insulin action in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. **Journal of Clinical Investigation**, [s.l.], v. 91, n. 2, p.484-494, 1 fev. 1993. DOI: 10.1172/jci116226.

RACETTE, S. B. *et al.* Abdominal adiposity is a stronger predictor of insulin resistance than fitness among 50-95 year olds. **Diabetes Care**, [s.l.], v. 29, n. 3, p.673-678, fev. 2006. DOI: 10.2337/diacare.29.03.06.dc05-1605.

RACHIMA-MAOZ, C.; PELEG, E.; ROSENTHAL, T. The effects of caffeine on ambulatory blood pressure in hypertensive patients. **Am. J. Hypertens.**, v.11, n.8, p.1426-1432, 1998.

REITZ, R.; KLEIN, R. M.; REIS, A. Projeto Madeira do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: CORAG, 1988.

RENNINGS, A. J. ¹³C and ³¹P NMR studies on the effects of increased plasma free fatty acids on intramuscular glucose metabolism in the awake rat. **Journal of Biological Chemistry**, [s.l.], v. 272, n. 16, p.10464-10473, abr. 1997. DOI: 10.1074/jbc.272.16.10464.

RESENDE, M. D. V. *et al.* Programa de melhoramento da erva-mate coordenado pela EMBRAPA: resultados da avaliação genética de populações, progênies, indivíduos e clones. **Colombo-PR: Embrapa Florestas**, v. 43, p. 1-67, 2000.

RESENDE, P. *et al.* Influence of crude extract and bioactive fractions of *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (yerba mate) on the Wistar rat lipid metabolism. **Journal of Functional Foods**, [s.l.], v. 15, p.440-451, maio 2015. DOI: 10.1016/j.jff.2015.03.040.

RESENDE, P. E. **Caracterização estrutural e avaliação biológica da fração enriquecida em saponinas dos frutos de *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. (mate)**. 2010. 38 f. TCC (Graduação) - Curso de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

RESENDE, P. E. *de et al.* The activity of mate saponins (*Ilex paraguariensis*) in intra-abdominal and epididymal fat, and glucose oxidation in male Wistar rats. **Journal of**

Ethnopharmacology, [s.l.], v. 144, n. 3, p.735-740, dez. 2012. DOI: 10.1016/j.jep.2012.10.023.

RESENDE, P. E. **Atividade de frações bioativas de mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) sobre o metabolismo de ratos Wistar submetidos à dieta hiperlipídica.** 2013. 101 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

ROBINSON, K. A. *et al.* Effects of diabetes and hyperglycemia on the hexosamine synthesis pathway in rat muscle and liver. **Diabetes**, [s.l.], v. 44, n. 12, p.1438-1446, dez. 1995. DOI: 10.2337/diab.44.12.1438.

RODEN, M. *et al.* Mechanism of free fatty acid-induced insulin resistance in humans. **Journal of Clinical Investigation**, [s.l.], v. 97, n. 12, p.2859-2865, jun. 1996. DOI: 10.1172/jci118742

RODWELL, V. W. *et al.* Regulation of HMG-CoA Reductase. In: EDWARDS, E.; BORTZ, E..**Advances in Lipid Research**. [s.l.]: Elsevier, 1976. p. 1-74.

ROMIJN, J. A. *et al.* Strenuous endurance training increases lipolysis and triglyceride-fatty acid cycling at rest. **Journal of Applied Physiology**, [s.l.], v. 75, n. 1, p.108-113, jul. 1993

ROSENGREN, A. *et al.* Impact of cardiovascular risk factors on coronary heart disease and mortality among middle aged diabetic men: a general population study.. **Bmj**, [s.l.], v. 299, n. 6708, p.1127-1131, 4 nov. 1989. DOI: 10.1136/bmj.299.6708.1127.

SAMARAS, K. *et al.* Metabolic burden and disease and mortality risk associated with impaired fasting glucose in elderly adults. **Journal of The American Geriatrics Society**, [s.l.], v. 63, n. 7, p.1435-1442, jul. 2015. DOI: 10.1111/jgs.13482.

SANZ, M. D. T., ISASA, M. E. T. Elementos minerales en la yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. H.). **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v.61, n.3, p.441-454, 1991.

SCALBERT, A. *et al.* Dietary polyphenols and the prevention of diseases. **Critical Reviews In Food Science and Nutrition**, [s.l.], v. 45, n. 4, p.287-306, jun. 2005. DOI: 10.1080/1040869059096.

SCHALKWIJK, C. G.; STEHOUWER, C. D. A. Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endothelial dysfunction. **Clin. Sci.**, [s.l.], v. 109, n. 2, p.143-159, 1 ago. 2005. DOI: 10.1042/cs20050025.

SCHINELLA, G. R.; TROIANI, G.; DAVILA, V.; de BUSCHIAZZO, P. M.; TOURNIER, H. A. Antioxidant effects of an aqueous extract of *Ilex paraguariensis*. **Biochem Bioph Res Comm**, v.269, p. 357– 60, 2000.

SCHMIDT, M. I. *et al.* Chronic non-communicable diseases in Brazil: burden and current challenges. **The Lancet**, [s.l.], v. 377, n. 9781, p.1949-1961, jun. 2011. DOI: 10.1016/s0140-6736(11)60135-9.

SCHRAUWEN, P.; HESSELINK, M. K. C. Oxidative capacity, lipotoxicity, and mitochondrial damage in type 2 diabetes. **Diabetes**, [s.l.], v. 53, n. 6, p.1412-1417, 25 maio 2004. DOI: 10.2337/diabetes.53.6.1412.

SCHUCHMANN, C. E. Z. **Ações para a formulação de um protocolo de rastreabilidade de Erva- Mate**. 2002. 94 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Agronegócio, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Erechim, 2002.

SEINO, S.; SHIBASAKI, T.; MINAMI, K. Dynamics of insulin secretion and the clinical implications for obesity and diabetes. **Journal of Clinical Investigation**, [s.l.], v. 121, n. 6, p.2118-2125, jun. 2011. DOI: 10.1172/jci45680.

SHEVITZ, A. *et al.* Clinical perspectives on HIV-associated lipodystrophy syndrome: an update. **Aids**, [s.l.], v. 15, n. 15, p.1917-1930, out. 2001. DOI: 10.1097/00002030-200110190-00003.

SHRESTHA, S. *et al.* Serum urea and creatinine in diabetic and non-diabetic subjects. **Journal of Nepal Association For Medical Laboratory Sciences**, [s.l.], v. 9, n. 1, p.11-12, dez. 2008.

SILVA, R. D. *et al.* The effect of aqueous extract of gross and commercial yerba mate (*Ilex paraguariensis*) on intra-abdominal and epididymal fat and glucose levels in male Wistar rats. **Fitoterapia**, [s.l.], v. 82, n. 6, p.818-826, set. 2011. DOI: 10.1016/j.fitote.2011.04.011.

SILVA, R. D. **Efeitos da erva-mate (*Ilex Paraguariensis*) sobre o metabolismo de aminoácidos e de lipídios em ratos wistar**. 2013. 57 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Mestrado em Ciências Biológicas: Fisiologia, Fisiologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

SINCLAIR, C. J. D.; GEISER, J. D. Caffeine use in sport: a pharmacological review. **Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, [s.l.], v. 40, n. 1, p.71-79, mar. 2000.

SOBEL, B. E. *et al.* Increased plasminogen activator inhibitor type 1 in coronary artery atherectomy specimens from type 2 diabetic compared with nondiabetic patients: a potential factor predisposing to thrombosis and its persistence. **Circulation**, [s.l.], v. 97, n. 22, p.2213-2221, 9 jun. 1998.

SOMAN, V. R.; DEFRONZO, R. A. Direct evidence for downregulation of insulin receptors by physiologic hyperinsulinemia in man. **Diabetes**, [s.l.], v. 29, n. 2, p.159-163, 1 fev. 1980. DOI: 10.2337/diabetes.29.2.159.

SPRIET, L. S. Caffeine and performance. **Int. J. Sports Nutr.**, v.5, n.1(suppl), p.S84-99, 1995.

STAEHR, P. *et al.* Assessment of hepatic insulin action in obese type 2 diabetic patients. **Diabetes**, [s.l.], v. 50, n. 6, p.1363-1370, jun. 2001. DOI: 10.2337/diabetes.50.6.1363.

STAHL, A. *et al.* Fatty acid transport proteins: a current view of a growing family. **Trends In Endocrinology and Metabolism**, [s.l.], v. 12, n. 6, p.266-273, ago. 2001. DOI: 10.1016/s1043-2760(01)00427-1.

STEINBERG, D. *et al.* Hormonal regulation of lipase, phosphorylase, and glycogen synthase in adipose tissue. **Advances In Cyclic Nucleotide Research**, [s.l.], v. 5, p.549-556, 1975.

STENHOLM, S. *et al.* Adipocytokines and the metabolic syndrome among older persons with and without obesity - the InCHIANTI Study. **Clinical Endocrinology**, [s.l.], p.55-65, out. 2009. DOI: 10.1111/j.1365-2265.2009.03742.x.

STRASSMANN, B. B. *et al.* Quantitation of methylxanthinic alkaloids and phenolic compounds in mate (*Ilex paraguariensis*) and their effects on blood vessel formation in chick

embryos. **J. Agric. Food Chem.**, [s.l.], v. 56, n. 18, p.8348-8353, 24 set. 2008. DOI: 10.1021/jf801041f.

STREMMEL, W. *et al.* Identification, isolation, and partial characterization of a fatty acid binding protein from rat jejunal microvillous membranes. **Journal of Clinical Investigation**, [s.l.], v. 75, n. 3, p.1068-1076, mar. 1985. DOI: 10.1172/jci111769.

STUMVOLL, M. *et al.* Metabolic effects of metformin in non-insulin-dependent diabetes mellitus. **New England Journal of Medicine**, [s.l.], v. 333, n. 9, p.550-554, ago. 1995. DOI: 10.1056/nejm199508313330903.

STUNKARD, A. J. Current views on obesity. **The American Journal of Medicine**, [s.l.], v. 100, n. 2, p.230-236, fev. 1996. DOI: 10.1016/s0002-9343(97)89464-8.

SUN, D. *et al.* Ischemia induces translocation of the insulin-responsive glucose transporter GLUT4 to the plasma membrane of cardiac myocytes. **Circulation**, [s.l.], v. 89, n. 2, p.793-798, 1 fev. 1994.

Tao, z; shi, a; zhao, j. Epidemiological Perspectives of Diabetes. **Cell Biochem Biophys**, [s.l.], v. 73, n. 1, p.181-185, 25 fev. 2015. DOI: 10.1007/s12013-015-0598-4.

The DECODE Study Group On Behalf of The European Diabetes Epidemiology Group. Glucose tolerance and mortality: comparison of WHO and American Diabetic Association diagnostic criteria. **The Lancet**, [s.l.], v. 354, n. 9179, p.617-621, ago. 1999. DOI: 10.1016/s0140-6736(98)12131-1.

THE DIABETES CONTROL AND COMPLICATIONS TRIAL RESEARCH GROUP. The Absence of a Glycemic Threshold for the Development of Long-Term Complications: The Perspective of the Diabetes Control and Complications Trial. **Diabetes**, [s.l.], v. 45, n. 10, p.1289-1298, 1 out. 1996. DOI: 10.2337/diab.45.10.1289.

TOBIAS, M. Global control of diabetes: information for action. **The Lancet**, [s.l.], v. 378, n. 9785, p.3-4, jul. 2011. DOI: 10.1016/s0140-6736(11)60604-1.

UYSAL, K. T. *et al.* Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF- α function. **Nature**, [s.l.], v. 389, n. 6651, p.610-614, out. 1997. DOI: 10.1038/39335.

VASCONCELLOS, F. C. F. **Os impactos da criação do Mercosul no mercado de erva-mate no Rio Grande do Sul**. 2012. 66 f. Monografia - Curso de Graduação em Ciências Econômicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

VINIK, A. I. *et al.* Diabetic Neuropathy. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, [s.l.], v. 42, n. 4, p.747-787, dez. 2013. DOI: 10.1016/j.ecl.2013.06.001.

VOZAROVA, B. *et al.* High Alanine Aminotransferase Is Associated With Decreased Hepatic Insulin Sensitivity and Predicts the Development of Type 2 Diabetes. **Diabetes**, [s.l.], v. 51, n. 6, p.1889-1895, 1 jun. 2002. DOI: 10.2337/diabetes.51.6.1889.

WANG, J. T. *et al.* Effect of habitual physical activity on age-related glucose intolerance. **Journal of The American Geriatrics Society**, [s.l.], v. 37, n. 3, p.203-209, mar. 1989. DOI: 10.1111/j.1532-5415.1989.tb06808.x.

WARD, D. T. *et al.* Functional, molecular, and biochemical characterization of streptozotocin-induced diabetes. **J Am Soc Nephrol.**, [s.l.], p.779-290, abr. 2001.

WEI, M. *et al.* Effects of diabetes and level of glycemia on all-cause and cardiovascular mortality: the San Antonio Heart Study. **Diabetes Care**, [s.l.], v. 21, n. 7, p.1167-1172, 1 jul. 1998. DOI: 10.2337/diacare.21.7.1167.

WILD, S. *et al.* Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. **Diabetes Care**, [s.l.], v. 27, n. 5, p.1047-1053, 26 abr. 2004. DOI: 10.2337/diacare.27.5.1047.

WILSON, P. W. F. *et al.* Clustering of metabolic factors and coronary heart disease. **Arch Intern Med**, [s.l.], v. 159, n. 10, p.1104-1109, 24 maio 1999. DOI: 10.1001/archinte.159.10.1104.

WINNICK, J. J. *et al.* Liver glycogen loading dampens glycogen synthesis seen in response to either hyperinsulinemia or intraportal glucose infusion. **Diabetes**, [s.l.], v. 62, n. 1, p.96-101, ago. 2012. DOI: 10.2337/db11-1773.

WOLFRUM, C. *et al.* Foxa2 regulates lipid metabolism and ketogenesis in the liver during fasting and in diabetes. **Nature**, [s.l.], v. 432, n. 7020, p.1027-1032, dez. 2004. DOI: 10.1038/nature03047.

World Health Organization. Global health estimates: deaths by cause, age, sex and country, 2000-2012. [s.l.], [s.v.], [s.n.], maio 2014.

World Health Organization. Global Status Report On Noncommunicable Diseases 2014. [s.l.], [s.v.], [s.n.], maio 2014

YAMADA, Y.; NAKAZATO, Y.; OHGA, A. The mode of action of caffeine on catecholamine release from perfused suprarenal glands of cat. **Br. J. Pharmacol.**, v.98, n.2, p.351-356, 1989.

YATSU, F. K. J. *et al.* *Ilex paraguariensis* pellets from a spray-dried extract: development, characterization, and stability. **Aaps Pharmscitech**, [s.l.], 11 jul. 2015. DOI: 10.1208/s12249-015-0361-6.

YEAGLEY, D. *et al.* Gene- and activation-specific mechanisms for insulin inhibition of basal and glucocorticoid-induced insulin-like growth factor binding protein-1 and phosphoenolpyruvate carboxykinase transcription: roles of forkhead and insulin response sequences. **Journal of Biological Chemistry**, [s.l.], v. 276, n. 36, p.33705-33710, 9 jul. 2001. DOI: 10.1074/jbc.m101215200.

YIP, J.; FACCHINI, F. S.; REAVEN, G. M. Resistance to insulin-mediated glucose disposal as a predictor of cardiovascular disease. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, [s.l.], v. 83, n. 8, p.2773-2776, ago. 1998. DOI: 10.1210/jcem.83.8.5005.

YKI-JARVINEN, H. *et al.* Localization of rate-limiting defect for glucose disposal in skeletal muscle of insulin-resistant type I diabetic patients. **Diabetes**, [s.l.], v. 39, n. 2, p.157-167, fev. 1990. DOI: 10.2337/diabetes.39.2.157.

YOON, Y-I. *et al.* *Allomyrina dichotoma* (Arthropoda: Insecta) larvae confer resistance to obesity in mice fed a high-fat diet. **Nutrients**, [s.l.], v. 7, n. 3, p.1978-1991, 17 mar. 2015. DOI: 10.3390/nu7031978.